

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et de Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Sujet

**Caractérisation biochimique des extraits du gingembre et
leurs effets antibactériens**

Présenté et soutenu par :
Mlle BRAKNI Lamia

Le : 18/10/2018

Devant le jury :

Président : Mr LHADJ MOHAND A.	M.A.A	U.M.M.T.O
Promotrice : Mme BEMMANSOUR N.	M.C. A	U.M.M.T.O
Examineur 1: Mr LOUADJ.	M.C.	U.M.M.T.O
Examineur 2 : Mr ABDOUN A.	P.R.M	

Promotion : 2017/ 2018

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

J'adresse mes vifs remerciements à ma promotrice Mme BEMMENSOUR, Maître de conférences classe A à l'Université de Tizi-Ouzou, de m'avoir fait l'honneur de m'encadrer, pour le temps et la patience qu'elle m'a accordé tout au long de ce mémoire.

Je remercie Mr LHADJ MOHAND A. Maître Assistant classe A, à l'Université de Tizi-Ouzou, des sciences biologiques et agronomiques, d'avoir honoré le jury en acceptant de le présider.

Egalement Mr Louadj L. Enseignant en Pharmacognosie et Mr Abdoun A. Pharmacien Résident en Microbiologie, à l'Université de Tizi-Ouzou, faculté de médecine, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs conseils et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail.

Merci ALLAH...

Je dédie ce travail Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHÈRES PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mes chers frères : Ali et Saïd pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

A ma sœur : Hanane

A mes chers amies: Meriem, Tinhinane, Sakoura, Thiziri, Damia, Kamélia, Dahbiya.

Lamia

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

Partie I : Revues bibliographiques

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée

1. Etymologie du nom	1
2. Histoire et Origine	1
3. Description botanique	2
4. Classification botanique du gingembre	2
5. Caractéristiques morphologiques	2
6. Multiplication	5
7. Culture	5
8. Récolte.....	5
9. Valeur nutritive du gingembre	5
10. La drogue végétale.....	6
11. Composition chimique.....	6
12. Principes actifs.....	8
13. Emplois en médecine traditionnelle	8
14. Activités pharmacologiques	8
15. Toxicité de la plante	9
15.1. Interactions médicamenteuses	9
15.2. Précaution d'emplois	9

Chapitre II : Principes actifs

1. Composés phénoliques	10
1.1. Structure et classification.....	10
1.2. Biosynthèse.....	12
1.3. Localisation des composées phénoliques	13
2. Flavonoïde	13
2.1. Structure chimique et classification	13
2.2. Biosynthèse	16

2.3. Localisation des flavonoïdes	16
3. Les anthocyanes.....	16
3.1. Structure	16
3.2. Biosynthèse	17
3.3. Localisation.....	18
4. Huiles essentielles	18
4.1. Composition chimique	18
4.2. Localisation.....	19
4.3. Caractéristiques.....	19
4.4. Conservation	19
4.5. Toxicité	19

Chapitre III : Activité antibactérienne

1. La flore normale chez l'homme	20
2. L'emploi abusifs d'antibiotiques	20
3. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	20
4. Conséquence de la résistance d'une bactérie	21

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal.....	22
2. Méthodologie	22
2.1. Etude botanique de la plante.....	22
2.2. Etude biochimique de la plante	25
2.2.1. Préparation du matériel végétal	25
2.2.2. Procédés d'extraction	26
2.2.2.1. Extractions des composés phénoliques.....	26
2.2.2.2. Extraction de l'huile essentielle.....	29
2.2.3. Criblage phytochimique	30
2.2.4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)	31
2.3. Activité antibactérienne	34
2.3.1. Test de contrôle interne	35
2.3.2. Méthode de diffusion sur milieu solide	38
2.3.3. Méthode de dilution sur milieu solide	39
2.3.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	39

2.3.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	39
---	----

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Résultats botaniques	41
2. Résultats biochimiques	43
2.1.. Estimations quantitatives des polyphénols totaux (PPT)	43
2.2. Estimation quantitative des flavonoïdes	45
2.3. Estimation du rendement en huile essentielle.....	46
2.4. Screening phytochimique	47
3. Activité antibactérienne.....	48

Conclusion générale et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

AFNOR : Association française de normalisation.

AG : Acide gallique

Ag : Aglycone

API : Analytical Profile Index

ATCC : American Type Culture Collection

At : Anthocyane

C: Concentration.

Cg : C-glycoside

C° : Degré Celsius.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

D : Diamètre.

DO : Densité optique

EAG/gMS : Equivalent d'Acide Gallique par Gramme de Matière Sèche

g : Gramme

G: grossissement

GIN : Gingembre.

GN : Gélose nutritive

H (%):Taux d'humidité.

H : Hydrolat.

h : Heure.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HCl : Acide chlorhydrique.

HE : Huile essentielle.

I : Intensité.

Kg : kilogrammes

log : logarithme

m : Masse.

MH : Muller Hinton

MVS : Matière végétal sèche

MVF : Matière végétal fraiche

min : Minute.

mg : Milligramme

ml : Millilitre.

mm : millimètre

nm : nanomètre.

pH: Potentiel d'Hydrogène.

PTT : polyphénols totaux

R(%):Rendement (%).

T:Température.

TH : teneur en eau.

TSI : Triple Sugar Iron

UV : Ultra-Violet

V:Volume.

µl: Microlitre

% : Pourcentage.

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimiques du rhizome de <i>Zingiber officinal</i>	7
Tableau II : Les principales classes de composés phénoliques	11
Tableau III : les principales anthocyanidines des végétaux	17
Tableau IV : coloration caractéristiques de chaque type de flavonoïdes	30
Tableau V : généralités sur les différentes souches étudiées.	35
Tableau VI : Résultats du criblage phytochimique	47
Tableau VII : Résultats des observations microscopiques des bactéries à l'état frais.	50
Tableau VIII: Résultats des observations microscopiques des bactéries après coloration de Gram.....	53
Tableau IX: résultats du test TSI Gélose après 24h d'incubation	54
Tableau X: Résultats de la galerie API20 pour <i>E. coli</i> repris du logiciel API Web.....	54
Tableau XI: Résultats de la galerie API20 pour <i>P. aeruginosa</i> repris du logiciel API Web ...	55
Tableau XII: Diamètres des zones d'inhibition (mm).....	57
Tableau XIII : Résultats des CMI pour chaque extrait.....	61
Tableau XIV : résultats des CMB pour chaque extrait	64

Liste des figures

Figure 1 : photo du <i>Zingiber officinale</i> entier	1
Figure 2 : photo de feuille de gingembre	3
Figure 3 : photo d'une inflorescence du gingembre.....	3
Figure 4 : photo d'une tige florale du gingembre.....	4
Figure 5: Diagramme floral du gingembre.....	4
Figure 6 : Rhizomes frais de <i>Zingiber Officinale L</i>	6
Figure 7 : Structure du groupement phénolique.....	10
Figure 8 : Schéma de la biosynthèse des principaux métabolites secondaires.....	12
Figure 9 : Squelette de base des flavonoides.....	14
Figure 10 : Structure des principaux sous-groupes de flavonoïde	15
Figure 11 : Squelette de base des anthocyanidines	17
Figure 12 : mécanismes de résistances des bactéries aux antibiotiques.....	21
Figure 13 : Rhizomes frais de <i>Zingiber Officinale L</i>	22
Figure 14: schéma représentant les étapes de la double coloration.....	24
Figure 15: Montage entre lame et lamelle.....	24
Figure 16 : Rhizome coupé et séché à l'air libre.....	25
Figure 17 : Broyeur électrique.....	26
Figure 18 : gingembre sec	26
Figure 19 : poudre de gingembre	26
Figure 20 : Protocole d'extraction des PPT	27
Figure 21: Protocole d'extraction des flavonoides.....	28
Figure 22: Dispositif d'hydrodistillation	29
Figure 23: spectrophotomètre UV-visible.....	31
Figure 24: protocole expérimental de la coloration de Gram.....	32
Figure 25: Galerie de tests biochimiques miniaturisée (Galerie API).....	36
Figure 26 : Observation microscopique d'une coupe transversale du rhizome de gingembre au G 10×10 (aspect général de la coupe)	37
Figure 27 : Observation microscopique d'une coupe transversale du rhizome de gingembre au G 40×40 (aspect détaillé de la coupe)	41
Figure 28 : Représentation du taux d'humidité du gingembre	41
Figure 29: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	43
Figure 30: Histogramme représentant la teneur du gingembre en flavonoides.....	44

Figure 31 : Huile essentielle du gingembre 44.....	45
Figure 32 : photographie de la croissance des différentes souches bactérienne après ré- isolement au bout de 24h d'incubation.....	46
Figure 33 : photographie d' <i>Escherichia coli</i> vu sous microscope optique (G×100)	49
Figure 34 : photographie de <i>Pseudomonas aerugina</i> vue au microscope optique (G×100)....	49
Figure 35 : photographie de <i>Staphylococcus aureus</i> vue au microscope optique (G×100).....	50
Figure 36 : photographie d' <i>Escherichia coli</i> vue au microscope optique (G×100) après coloration de Gram.....	50
Figure 37 : photographie de <i>Staphylococcus aureus</i> vue au microscope optique (G×100) après coloration de Gram.....	51
Figure 38: Réaction à la catalase obtenue successivement pour les 3 germes testés.	51
Figure 39 : photographie des résultats du test TSI Gélose après 24h d'incubation	52
Figure 40 : photographie des résultats de la galerie API-20 pour <i>Escherichia coli</i>	53
Figure 41 : photographie des résultats de la galerie API-20 pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ..	54
Figure 42 : Résultats de l'aromatogramme	54
Figure 43 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits testés .	57
Figure 44 : Résultats des CMB	58
Figure 45 : Résultats des CMB	63

An orange border with rounded corners and scroll-like details at the top and bottom, framing the text.

Introduction

Générale

Introduction


La prescription abusive d'antibiotiques, dénoncée depuis des décennies par les tenants des médecines naturelles, est aujourd'hui reconnue par tous comme un problème majeur de santé publique. Les souches microbiennes deviennent de plus en plus résistantes, rendant inefficaces ces antibiotiques qui, par ailleurs, comportent des effets secondaires affaiblissant le système immunitaire (Willem JP. ; 2012). Il apparaît donc indispensable de développer de nouvelles voies de recherche pour aboutir à des alternatives pouvant contrer la croissance galopante de cette bio résistance des souches microbiennes qui entraîne l'inefficacité de plus en plus fréquente des différents groupes moléculaires et chimiques d'antibiotiques utilisés (Aouni M. et al ; 2013).

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules à activités biologiques et pharmacologiques très variées (Ghedadba N.; 2015) Les activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés sont dues essentiellement à la fraction d'huile essentielle et aux composés phénoliques contenues dans les plantes.

Dans ce cadre nous nous sommes intéressés à la valorisation d'une plante miracle, connue depuis l'antiquité « *Zingiber officinal L.* » de la famille des Zingibéracées, de par l'étude de sa composition biochimique à travers l'isolement et l'identification de biomolécule d'intérêt, et de par l'évaluation du potentiel antibactérien de ces principes actifs *in vitro*.

Partie I :

Revue bibliographique

The text is enclosed in a decorative orange border that resembles a scroll. The border has rounded corners and a small circular detail at the top right, suggesting a scroll's end. The text is centered within this frame.

CHAPITRE I

**Présentation de la plante
étudiée**

1. Etymologie du nom

Le terme gingembre viendrait de *singabera* signifiant « en forme de cornes » en Prâkrit, une langue ancienne de l'Inde. Il serait à l'origine étymologique de *zingiers* en grec, avant de devenir *zingiber* en latin (Asther L. ; 2012).



Figure 1 : photo du *Zingiber officinale* entier (Foine A. ; 2017)

2. Histoire et Origine

Cette plante condimentaire et médicinale depuis plus de 3 000 ans est originaire de l'Inde. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1er siècle (Gigon F. ; 2012).

C'est vers l'an mille qu'ils sont parvenus en France (Huguette M.; 2008).

De nombreux cultivars sont produits en Inde, en Malaisie, en Chine, mais aussi au Sierra Leon, au Nigeria, en Australie (Rombi M.; et al 2015). En Algérie, c'est une plante qui est importée (Lucienne AD. ; 2005).

3. Classification botanique du gingembre

Selon Gygon F. (2012) ,

Règne	Plantae
Sous-règne	Trachéobionta
Division	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Sous-classe	Zingibériidées
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingibéracées
Sous-famille	Zingibéroïdées
Genre	Zingiber.
Espèce	<i>Z. officinale</i>

4. Description botanique

Le gingembre est une plante de la classe des monocotylédones (Avry M. et Gallouin F.; 2007). Elle appartient à la famille des Zingibéracées (Huguet M.; 2008). C'est une grande herbe tropicale vivace, à port de roseau et à souche rhizomateuse portant des yeux et des bourgeons qui donnent naissance à des tiges (wichtl M. et Anton R. ; 2003). Mesurant jusqu'à 3 m de haut (Favre Cl. ; 2006). La plante fleurit assez rarement (en automne) et ne produit pratiquement pas de graine (Teusher E. et *al.*; 2005). Elle est pourvue d'un rhizome irrégulier, encore appelé « main » ou « patte ». Sur ce rhizome naissent des rameaux aériens les uns sont stériles. Les autres rameaux se terminent par une inflorescence ovoïde (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

5. Caractéristiques morphologiques

▪ Les feuilles

Linéaire et lancéolées peuvent atteindre plus de 20 cm de haut (wichtl M. et Anton R. ; 2003). Elles sont alternes, leur limbe entier, glabre, lancéolé et acuminé (Teusher E. et *al.*; 2005).



Figure 2 : photo de feuille de gingembre (Foine A. ; 2017).

- **Les fleurs**

Odorantes de 5cm de long et disposées dans l'axe des bractées; **Le calice**, de 1 cm de longueur environ est formé de 3 sépales blanchâtres (Teusher E. et *al.*; 2005).; **La corolle** est 2 fois plus longue que le calice. Elle est formée de 3 pétales soudés à la base, libre au sommet. Les 3 lobes sont lancéolés, aigus et de même taille; **L'androcée** est formé de plusieurs étamines, dont une seule est fertile. Son connectif torsadé, unissant les 2 loges de l'anthere, est saillant. Les autres étamines sont stériles ; **L'ovaire** est infère, triloculaire et glabre (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

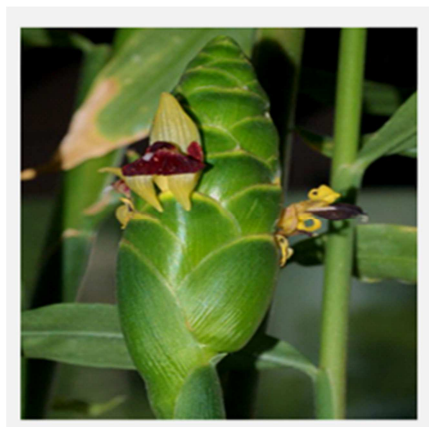


Figure 3 : photo d'une inflorescence du gingembre (Foine A. ; 2017)

- **Les tiges**

Les tiges stériles ont jusqu'à 1m de haut et portent de longue feuille à port de roseau.

Les tiges fertiles n'ont que 30 cm de haut et ne portent pas de feuilles (tige aphyllé), mais des écailles glabres, engainante, emboîtées les une dans les autres (Teusher E. et *al.*; 2005).



Figure 4 : photo d'une tige florale du gingembre (Foine A. ; 2017)

- **Le rhizome**

Gros rhizome charnu, extrêmement aromatique (Debuigne G.; et Couplan F.; 2009). Le rhizome porte sur sa face supérieure de courtes ramifications obovales aplaties, obliques, dont l'apex présente parfois une cicatrice en creux. Le rhizome entier mesure environ 5 à 10cm de longueur, 1,5 à 3-4 cm de largeur, et 1 à 1,5 cm d'épaisseur ; il est parfois fendu longitudinalement (Rombi M.; et *al* 2015).

- **Le fruit**

Le fruit est une capsule à trois loges (Lucienne A-D. ; 2005), charnue ressemblant à une baie (Teusher E. et *al.*; 2005). Selon Faivre Cl. *et al.* (2006) et Gigon F. (2012) ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires.

- **Diagramme floral**

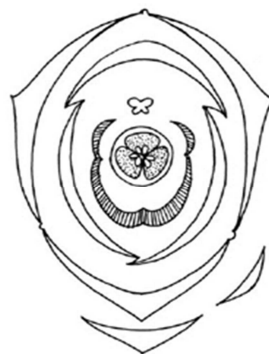


Figure 5 : Diagramme floral du gingembre (Foine A. ; 2017)

- **Formule florale** : $3S + 3P + 1E + 3C$ (Faivre Cl. *et al.*; 2006)

6. Multiplication

La fécondation ne présente pas d'intérêt pratique (Avry M. et Gallouin F.; 2007) car sa multiplication se fait par voie végétative, à partir de fragments de rhizome porteurs d'au moins un bourgeon de 5cm de long (Teusher E. et *al.*; 2005).

7. Culture

La plante exige un climat tropical, une atmosphère très humide, une température relativement stable ainsi qu'un sol léger, riche en humus, suffisamment irrigué et un endroit semi-ombragé (Teusher E. et *al.*; 2005). Elle pousse de préférence en plein soleil, dans des sols légers, riches, acides et exempts de pierres pour le développement des rhizomes (Lucienne A-D. ; 2005).

Le gingembre se développe sous des conditions climatiques particulières : une température moyenne de 25°C minimum et une pluviosité annuelle moyenne supérieure à 2000 mm. L'irrigation est nécessaire si les pluies ne sont pas assez abondantes. Ils sont plantés en mars-avril, à 10cm de profondeur, dans un compost formé par 1/3 de terre de bruyère, 1/3 de terreau, 1/3 de terre franche ou dans un sol argilo-sableux, fertile, riche en humus et bien drainé. Parfois, ils sont recouverts de fumier bien décomposé ou des feuilles (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

8. Récolte

Le rhizome est récolté lorsque les feuilles sont encore vertes ou quand elles se fanent. Les racines sont éliminées et le rhizome est grossièrement épluché afin de lui donner un aspect plus régulier, puis lavé et séché au soleil sur des nattes pendant 3 à 5 jours (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

9. Valeur nutritive du gingembre

L'analyse de 100g de gingembre donne : potassium (1 300mg), magnésium (180mg), phosphore (150 mg), calcium (120mg), sodium (23mg), fer (12mg), zinc (5mg), niacine (5mg), vitamine A (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

10. La drogue végétale



Figure 6 : Rhizome du gingembre

Elle est constituée par le rhizome séché, entier ou coupé, de *Z. officinale*, débarrassé du liège soit complètement, soit seulement sur les faces plates et larges de la tige (Rombi M.; *et al* 2015) il contient au minimum 15 mL/kg d'huile essentielle, teneur calculée par rapport à la drogue anhydre (Allais D. ; 2009).

11. Composition chimique

Le rhizome contient une huile essentielle de couleur jaune à brune, une oléorésine, des acides aminés, des acides gras, une enzyme (zingibaine) et de l'amidon.

L'élément le plus abondant est de loin l'amidon (60% du poids sec) (Rombi M. et Robert D. ; 2015).

L'huile essentielle du rhizome (1 à 3% de la matière sèche) contient des terpènes à odeur agréable, camphrée, à saveur chaude.

L'oléorésine contient des principes piquants, en particulier : les gingérols, shogaols, paradols, dont la zingérone.

Le rhizome de gingembre renferme également des lipides, des glucides (50 à 60%) sous forme de cellulose, d'amidon et de pentosanes, des protides et des matières minérales (Avry M. et Gallouin F.; 2007).

Tableau I : Composition chimiques du rhizome de *Zingiber officinal* (Faivre Cl. *et al.*; 2006).

Huile essentielle (0,25 à 3% -17 ml/kg) 2,5 à 3 % minimum de 1,5 % selon l'AOAC et le DAB	Sesquiterpènes	Monoterpènes : α -pinène (2,5 %), camphène (8 %), β -pinène (0,4 %), myrcène (0,9 %), limonène (3,1%), 13-phellandène (4,2 %). Monoterpénols : linalol (0,6 %), citronnellole (2 %). Monoterpénals : citronnellal (0,4 %), myrténal, phellandral (0,2 %), néral (0,5 %), géraniol (0,9 %). Sesquiterpènes : dont zingibène (30%), [3-sesquiphellandène (9 %), germacrène B (0,6 %), germacrène D (0,4 %), 13-curcumène, ar-curcumène (8 %)
	Alcools sesquiterpéniques	Géraniol, néral, citral, chavicol, esters acétique et caprylique, gingérol-6 (12 %), alpha-curcumène (de 7 à 19 %)
	Hydrocarbures aliphatiques aromatiques et	Toluène, Alcools aliphatiques (butanol heptanol), Alcool cuminique, Aldéhydes aliphatiques (butanal, pentanal), Cétones aliphatiques (acétoneheptanone méthyl heptanone)
Oléorésine (de 4 à 7,5 %)	Diarylheptanoides	Gingérol, shogaol (uniquement dans la drogue séchée) zingéone, gingediol, paradols. Ces composés ont une chaîne latérale de longueur variable de 7 à 16 carbones. Notons que certains composés ne sont pas présents dans la drogue fraîche : les shoagols sont produits par la déshydratation et seraient plus irritants et plus acres. Une autre catégorie de molécules ne se retrouve pas dans la drogue fraîche, ce sont les gingérones A et B arylheptanoides se développent au cours de la dessiccation
Acides aminés		
Acides gras		Acide oléique, acide linoléique
Autres constituants		Acide pipécolique et glycérols de monoacyldigalactosyle acide cinnamique
Enzyme		Zingibaine
Amidon		Amylose 22,2 %

12. Principes actifs

Selon Cecchini T. et Ticli B. (2008), le gingembre comporterait les principes actifs suivants : Huiles volatiles, dont zingibérène, zingibérol, zingérone, gingérol, gingérine, phellandrène, bornéol, cinéol ; acide citrique, amidon, mucilage, résine.

13. Emplois en médecine traditionnelle

Le gingembre est utilisé comme stomachique, carminatif, tonique aromatique et stimulant de sécrétion salivaire (Allais D. ; 2009).

Dioscoride donnait déjà le gingembre comme stomachique. Paracelse et Hildegarde de Bingen préconisaient aussi le gingembre contre les troubles de la digestion. Lonicerus l'utilisait comme médication pour les troubles gastriques, comme stimulant digestif et dans les spasmes entérocoliques.

Pour la médecine traditionnelle chinoise, le gingembre est une drogue de nature tiède et de saveur piquante. Elle réchauffe le coeur, libère le *Biao*, calme la toux, arrête les vomissements. La médecine ayurvédique l'utilise notamment dans le traitement de la migraine connue comme une grande pourvoyeuse de nausées (Gigon F. ; 2012).

Le rhizome de gingembre est utilisé comme accélérateur de la digestion, comme cholagogue et antitussif (Pousset J-L. ; 2004).

14. Activités pharmacologiques

De nombreuses propriétés pharmacologiques et cliniques ont été enregistrées pour cette plante dont le rhizome montre effectivement une activité médicamenteuse (Faivre Cl. *et al* ; 2006). Certaines ont été démontrées par des études expérimentales : l'oléorésine est hypocholestérolémiante, le [6]-gingérol cholagogue et le [8]-gingérol hépatoprotecteur ; l'extrait acétonique et le zingibérène sont anti-ulcéreux ; l'extrait aqueux fait décroître le taux de lipidémie ; la drogue possède des activités anti-inflammatoires (par inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et des leucotriènes), immunomodulatrice, antioxydante et antiradicalaire.

L'action anti-émétique serait consécutive à des effets directs sur le système digestif (par suppression des contractions gastriques, et stimulation de la motilité gastro-intestinale et du péristaltisme), action attribuée aux gingérols et shogaols.

Un effet antiulcéreux a été mis en évidence chez le rat : l'extrait acétonique (1g/kg, per os) et le zingibérène (100mg/kg) inhibent significativement l'induction d'ulcération par une solution éthanolique d'acide chloridrique.

En dermatologie, le gingembre présente également un intérêt : il aurait des propriétés d'inhibition de l'élastase permettant d'empêcher la formation de rides induites par une irradiation UV-B sur la peau du rat.

Les propriétés antioxydantes et antiradicalaires du gingembre lui confèrent un caractère radioprotecteur.

Le 6-gingérol est également capable d'inhiber l'angiogenèse aussi bien *in vitro* que *in vivo* ce qui lui confère un potentiel anticancéreux. Le gingembre a été testé en complément alimentaire pour ses propriétés anticarcinogènes aussi bien préventives que curatives sur le cancer du côlon induit chez le rat.

Le gingembre inhiberait la croissance du virus influenza A/AICHI/2/68 (Aichi) de manière indirecte par l'activation des macrophages amenant à la production de TNF α .

Une étude clinique menée auprès de 247 sujets, a montré qu'un extrait de gingembre et de galanga (*Alpinia galanga*), administré par voie orale pendant 6 semaines, permettait de réduire de façon significative les symptômes de l'arthrose du genou (Rombi M.; *et al* 2015).

15. Toxicité de la plante

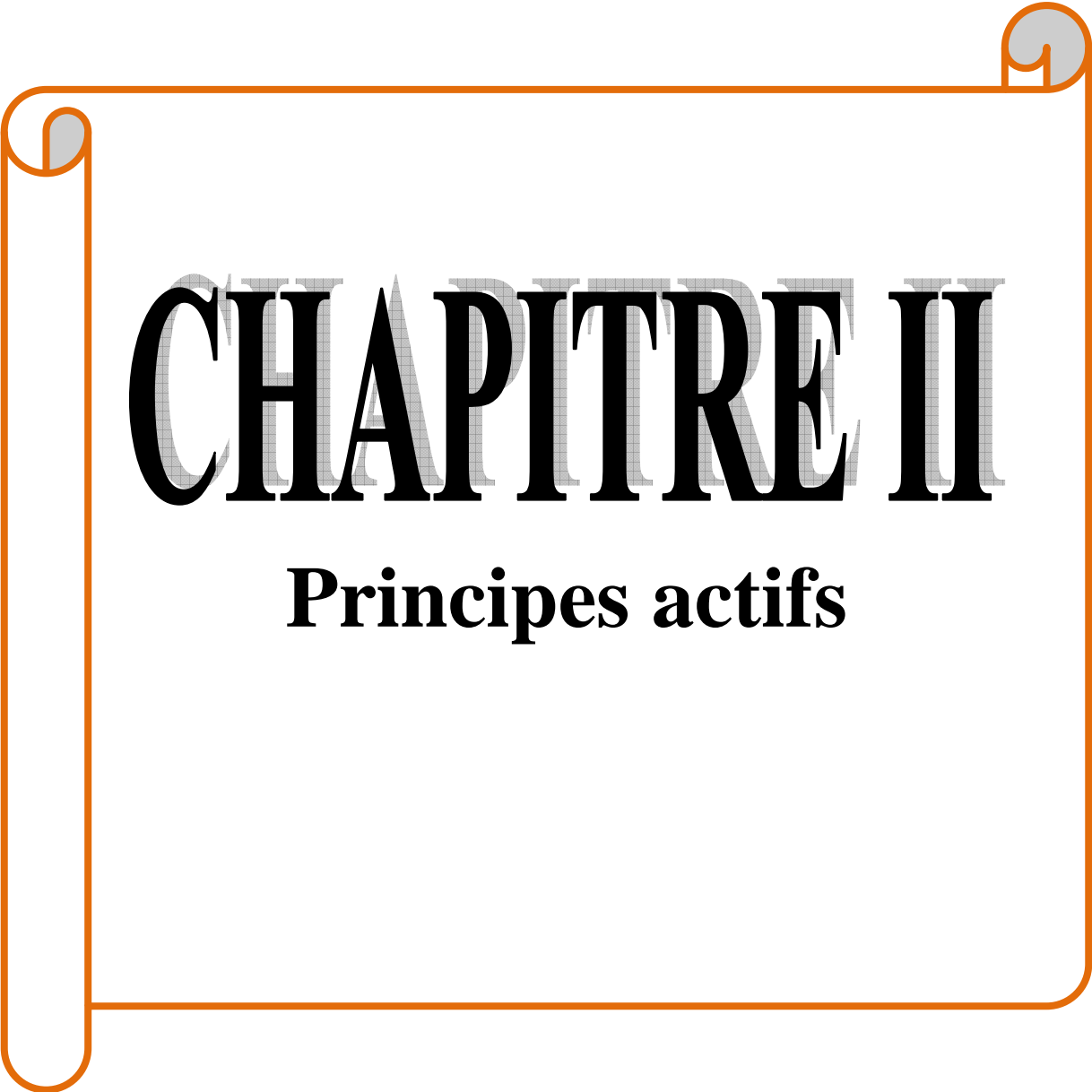
Aucune toxicité aiguë ou chronique n'est signalée lorsque le gingembre est utilisé comme condiment, à des doses raisonnables. Par contre à fortes doses (supérieur à 4g à 6g), le gingembre peut conduire à des irritations stomacales. Chez les personnes sensibles, des allergies de contact peuvent également se manifester (Teusher E. *et al.*; 2005). Il est à éviter pour les personnes souffrant de gastrite ou de maladie inflammatoire de l'intestin en phase aiguë (Rombi M.; *et al* 2015). Aucun effet indésirable sévère n'a été signalé au cours des essais cliniques chez les femmes enceintes. Mais il manque des données à long terme quant aux conséquences sur les enfants exposés *in utero* (Allais D. ; 2009).

15.1. Interactions médicamenteuses

Expérimentalement, le gingembre inhibe la synthèse des prostaglandines: il faut être vigilant en cas d'association avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les anticoagulants (Allais D. ; 2009).

15.2. Précaution d'emplois

À titre de précaution, la femme enceinte et celle qui allaite ne doivent pas en prendre, en particulier pour les doses qui dépassent largement les quantités utilisées dans les aliments. Il est conseillé de l'éviter en cas de lithiase biliaire (Allais D. ; 2009).

The text is enclosed in a decorative orange border that resembles a scroll. The border has rounded corners and small circular details at the top and bottom edges, suggesting the binding of a book or a rolled-up document.

CHAPITRE II

Principes actifs

D'après Macheix J-J. *et al.* (2005) et Morot-Gaudrey J-F. *et al.* (2017), une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire et valorisés actuellement pour développer une chimie dite biosourcée indépendante des réserves fossiles et respectueuse de l'environnement.

1. Composés phénoliques

Les polyphénols (8 000 composés connus) représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal (Collin S. et Crouzet J. ; 2011).

Ce sont des dérivés non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate (Bruneton J, 2009). Concerne à la fois les mono-, di- et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Macheix J-J. *et al.* ; 2005).

1.1. Structure et classification

Leurs structures et leurs tailles varient grandement, allant de petits phénols simples jusqu'aux tannins complexes de haut poids moléculaires. (Medjahed Z. ; 2016) L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. (Bruneton J, 2009).

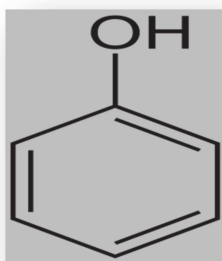


Figure 7 : structure du groupement phénolique

Les composés phénoliques sont généralement classés en fonction du nombre et de l'arrangement des atomes de carbone, de la nature de leur squelette carboné et de la longueur

de la chaîne aliphatique attachée au noyau benzène. En plus de cette complexité de structure, les composés phénoliques sont généralement conjugués à des sucres ou des acides organiques, ce qui augmente grandement la complexité et explique que plus de 8000 composés individuels ont été décrits (Medjahed Z. ; 2016).

Tableau II : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix J-J. et *al.*; 2005)

Squelette	Classe	Exemple	Origine
Carboné			
C_6	Phénols simples	Catéchol	
C_6-C_1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> - hydroxybenzoïques	Epices, fraise
C_6-C_3	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C_6-C_4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, feurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		Bois, noyau des fruits
$(C_{15})_n$	Tannins		Raisin rouge, Kaki

1.2. Biosynthèse

Le squelette carboxylique des composés phénoliques est synthétisé à partir de l'acide shikimique issu soit de la glycolyse (PEP), soit du cycle de Calvin (érythrose 4 phosphate), une autre partie est synthétisée à partir de l'acétate. (Medjahed Z. ; 2016)

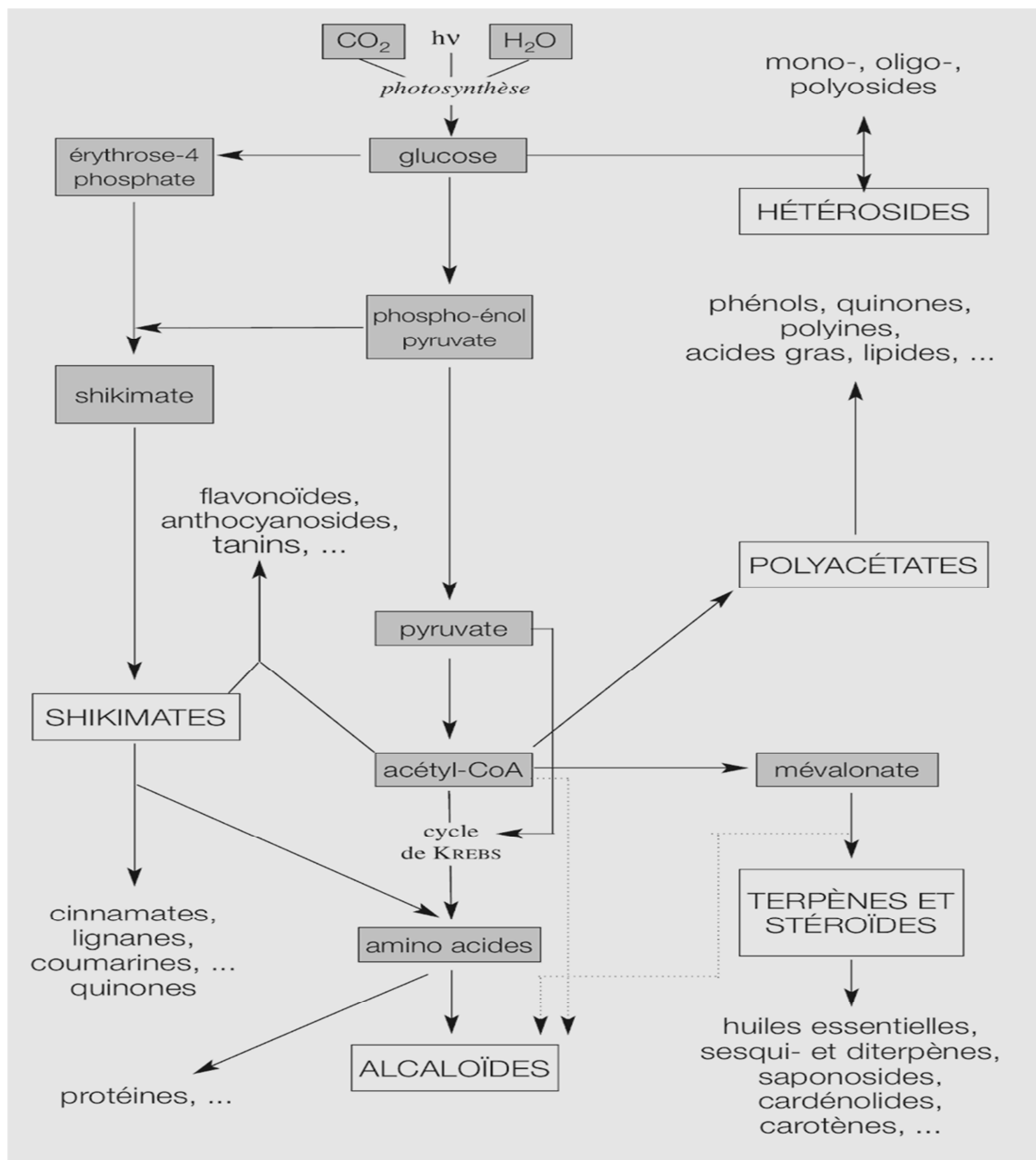


Figure 8 : Schéma représentatif de la biosynthèse des principaux métabolites secondaires (Bruneton J. ; 2009)

1.3. Localisation des composés phénoliques

✚ A l'échelle cellulaire :

A l'échelle cellulaire, la répartition des composés phénoliques est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part **la paroi cellulaire** où sont présents les lignines (et quelques fois certains flavonoïdes et des molécules associées aux lignines comme l'acide férulique) et **la vacuole** où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanins...). Certains flavonoïdes (quercétine, Kaempférol) pourraient également être présents au niveau du **noyau** et de **la membrane plasmique** mais toujours à très faible concentration. (Sarni-Manchado P. ; 2006)

✚ A l'échelle tissulaire :

Dans les tissus où la plupart des cellules sont mortes (le bois par exemple), les composés phénoliques et en particulier les flavonoïdes, se retrouvent alors adsorbés sur les structures pariétales. Les composés phénoliques des feuilles présentent généralement une répartition très caractéristique, avec de fortes teneurs des anthocyanes et des flavonols dans les épidermes. (Macheix J-J. et al ;2005)

2. Flavonoïde

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal, qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (Kholkhal F. ; 2014).

L'ensemble des flavonoïdes, de structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et les flavonols, de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine. (Macheix J-J. ;2005)

2.1. Structure chimique et classification

Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base: deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (figure ..) liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (Boubekri C. ; 2014).

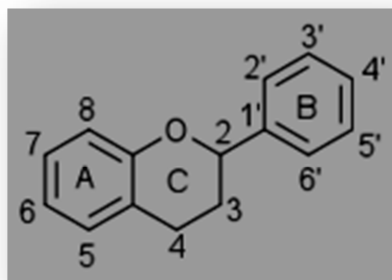


Figure 9 : Squelette de base des flavonoïdes

En dehors de quelques exceptions (d'une part le groupe des flavanes et d'autre part quelques flavonoïdes excrétés dans les exsudats), les flavonoïdes sont presque tous liés à des sucres. A ce titre, ils appartiennent au grand groupe des hétérosides, la partie phénolique représente l'**aglycone**. (Macheix J-J. et *al.* ; 2005)

➤ Génines ou aglycones (substances non glucidique)

Les génines sont réparties en différentes classes : flavones (apigénine...); flavonols (3-hydroxyflavones) (quercétol ...); flavanones (2,3-dihydroflavone) (hespérétol, liquiritigénine ...); chalcones (isomères des flavanones à cycle C ouvert) (isoliquiritigénine ...); isoflavones (dérivés de la 3-phénylchromones par isomérisation des flavones); bisflavones (résultant de la dimérisation des flavones)

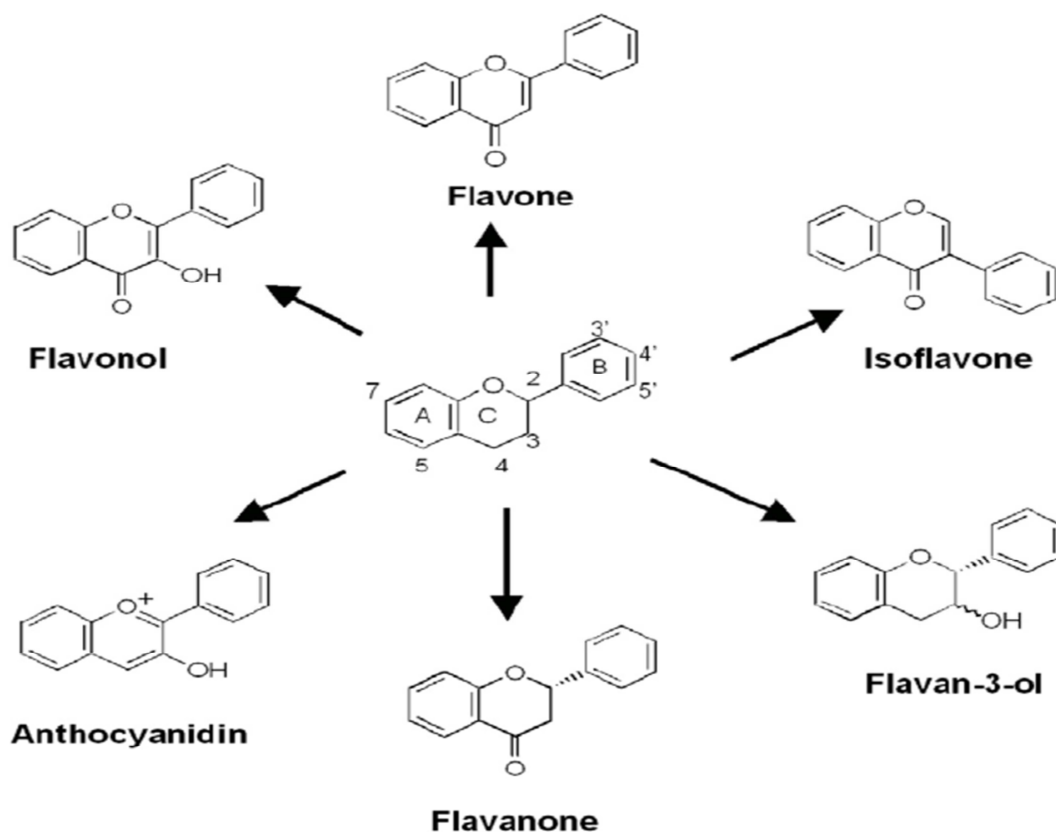


Figure 10: Structure des principaux sous-groupes de flavonoïde

➤ **Oses**

Glucose et rhamnose sont les sucres les plus fréquemment rencontrés. (Ghestem A. et al. 2001)

➤ **Modes de liaison oses-génines**

D'une manière générale, l'ose est lié à la molécule phénolique par l'intermédiaire d'une liaison glycosidique C-O-C dégradable par hydrolyse acide à chaud. Dans quelques cas plus rares, la liaison est de type C-C, beaucoup plus résistante. (Sarni-Manchado P. et al. 2006)

Les O-hétérosides sont de loin les plus fréquents. La liaison s'établit préférentiellement :

- Avec l'hydroxyle en 3 chez les flavonols ;
- Avec l'hydroxyle en 7 chez les flavones et flavanones. (Ghestem A. et al. 2001)

Les C-glycosylflavonides, ne sont pas rares : on en connaît plus de 350. La liaison s'établit entre le carbone anomérique du sucre (c'est souvent le glucose, mais ce peut être le galactose ou un pentose) et le carbone C6 ou C8 de la génine. (Bruneton J. ; 2009)

2.2. Biosynthèse

A l'origine, les flavonoïdes proviennent de la désamination d'un acide aminé essentiel, la phénylalanine. La réaction de désamination est catalysée par la phényl ammonialyase (PAL), et conduit à la formation de cinnamate. Ce dernier est ensuite transformé en acide coumarique puis en 4-coumaryol-coenzyme A, respectivement par l'enzyme cinnamate-4-hydrolase (C4H) et la CoA-ligase (4CL). Le coumaryol-CoA est ensuite transformé en chalcone en faisant intervenir le malonyl-CoA, et la chalcone synthase. (Medjahed Z. ; 2016)

La biosynthèse des différents groupes de flavonoïdes implique un ensemble complexe de réactions comprenant des hydroxylations, méthylations, oxydations, réductions, glycosylations ... (Sarni-Manchado P. ; 2006)

2.3. Localisation des flavonoïdes

Ce sont des composés phénoliques fréquemment présents sous la forme hétérosidique, hydrosoluble (Avry M. et Gallouin F.; 2007) et sont présents au niveau des organes aériens avec une concentration d'autant plus importante que ces organes sont jeunes (Le Stang F. ; 2013). Ils s'accumulent préférentiellement dans les vacuoles des cellules superficielles des feuilles et des fleurs (Avry M. et Gallouin F.; 2007). Ceci dit, le rhizome du gingembre fait exception.

3. Les anthocyanes

Le terme d'anthocyane, initialement forgé pour désigner la substance responsable de la coloration des fleurs du bleuet (gr.anthos, fleur et Kuanos, bleu), s'applique à un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits. Ces pigments existent sous la forme d'hétérosides (les anthocyanosides [ou *anthoyanins* en anglais]) et leurs génines (les anthocyanidols [ou *anthocyanidines* en anglais]) sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylium, ce qui souligne l'appartenance de ces molécules au vaste groupe des flavonoïdes au sens large. (Bruneton J. ; 2009)

3.1. Structure

➤ Génines

Les génines appelées anthoyanidols ou anthocyanidines sont des dérivés polyphénoliques du 2-phénylbenzopyroxonium ou flavylium (cyanidol, delphinidol, pétunidol, malvidol). Elles sont toujours hydroxylées en 3 et, le plus souvent, penta-ou hexasubstituées par des hydroxyles qui peuvent être libres, étherifiés ou engagés dans des liaisons hétérosidique.

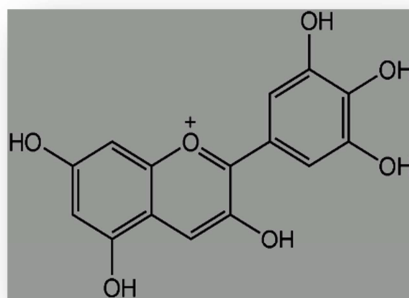


Figure 11 : Squelette de base des anthocyanidines

➤ **Oses**

Les oses sont le plus souvent le glucose ou le rhamnose (enchaînement de 1 à 3 oses).

➤ **Mode de liaison ose-génine**

Les anthocyanosides sont des O-hétérosides et la fraction osidique est fixée en 3, en 5, ou en 3 et 5 de la génine. Ces hétérosides sont généralement associés à des anions organiques et à des cations bivalents (Ghestem A. *et al.* 2001).

Tableau III : les principales anthocyanidines des végétaux (Macheix J-J. ; 2005)

R₁, R₂	Antocyanidine	Couleur	Plante
R₁= R₂=H	Pélagonidine	Orange-rouge	Pélagonium rouge
R₁ = OH, R₂ =H	Cyanidine	Rouge	Pomme rouge
R₁ = OCH₃, R₂= H	Péonidine	Rose	Pivoine rose
R₁= R₂= OH	Delphinidine	Bleue-violette	Mufler violet
R₁= OCH₃, R₂= OH	Pétunidine	Violette	Pétunia violet
R₁= R₂= OCH₃	Malvidine	Mauve	Mauve

3.2. Biosynthèse

Les anthocyanosides sont issus du métabolisme général des flavonoïdes. Les données expérimentales obtenues à l'aide de mutants acyanogènes et de génotypes à fleurs blanches montrent que les 2,3-trans-dihydro-3,4-cis-dihydroxyflavonols sont les précurseurs des anthocyanidols. Les étapes ultimes de la formation des anthocyanosides ne sont pas encore élucidées : il est vraisemblable que les diols subissent une hydroxylation (en C-2) et une double déshydratation. La glucosylation (qui nécessite l'intervention de l'UDP-glucose) est sans doute tardive. (Bruneton J. ; 2009)

3.3. Localisation

Les anthocyanes sont très répandus dans le règne végétal sous forme d'hétérosides (anthocyanosides). On les trouve dans de nombreuses fleurs, fruits mûrs, parfois feuilles, auxquels ils confèrent leur couleur (Ghestem A. *et al.* 2001). Les anthocyanosides peuvent éventuellement être rencontrés dans des bractées (Bromeliaceae), dans des feuilles (Coleus spp.), dans des pétioles (rhubarbe des jardins), voire dans des racines (radis) ou des bulbes (oignon rouge). Ils s'accumulent le plus souvent dans les vacuoles des cellules épidermiques, en solution, plus rarement sous forme d'antocyanoplastes. C'est dans les fruits que la concentration est la plus élevée (Bruneton J. ; 2009).

4. Huiles essentielles

Il s'agit de mélanges de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Teusher E. *et al.*; 2005).

4.1. Composition chimique de l'huile essentielle

Leur chimie est complexe mais, en général, elles sont un mélange de terpènes, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones et d'esters (Padrini F. et Lucheroni M.T. ; 2003).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes dont les constituants sont presque exclusivement de deux types : des composés terpéniques d'une part et des composés aromatiques, d'autre part (Ghestem A. ; *et al.* 2001).

La composition chimique varie en fonction de l'origine botanique (espèce, organe), du mode d'extraction et de la durée de conservation (Catier O. et Roux D. ; 2007).

➤ Composé terpéniques

Sont rencontrés principalement les terpènes les plus volatils : des monoterpènes (en C₁₀) et des sesquiterpènes (en C₁₅) (Ghestem A. ; *et al.* 2001).

➤ Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ces composés sont beaucoup moins fréquents. Ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent : acide, ester, aldéhyde, phénol, éther phénoïque (Ghestem A. ; *et al.* 2001).

4.2. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformé en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles (Teusher E. et *al.*; 2005). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux et sont localisées soit dans des cellules sécrétrices isolées, soit dans des organes sécréteurs : poches, canaux, poils (Catier O. et Roux D. ; 2007).

4.3. Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont très volatiles, s'oxydent facilement et sont à la fois photosensible et thermosensible (Catier O. et Roux D. ; 2007). Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire, d'odeur aromatique très forte. Elles sont très peu solubles dans l'eau, et sont solubles dans les solvants organiques apolaires usuels et dans les alcools de titre élevé (Ghestem A. ; et *al.* 2001). Elles sont inflammables. Elles sont présentent en petites quantités par rapport à la masse du végétal (Padrini F. et Lucheroni M.T 2003).

4.4. Conservation

Ces substances très délicates s'altèrent facilement et perdent leur propriété si elles ne sont pas enfermées dans des récipients bien clos, à l'abri de l'air et de la lumière (Padrini F. et Lucheroni M.T. ; 2003) d'après Catier O. et Roux D. (2007) il faut les conserver à l'abri de la lumière, de la chaleur mais surtout de l'oxygène de l'air, prévenant les risques d'acidification de ses composés (aldéhydes, cétones, phénols....).

4.5. Toxicité

Elles peuvent provoquer des allergies, des irritations cutanées et –ingérées- de graves intoxications : c'est pourquoi elles doivent être gardée hors de la portée des enfants. Correctement utilisées, les huiles essentielles ne provoquent pas d'effets secondaires (Shirner M..2001).

CHAPITRE III

Activité antibactérienne

1. La flore normale chez l'homme

Les virus, bactéries et champignons sont souvent considérés comme des micro-organismes agressifs et invasifs pour le corps humain, ce qui n'est cependant pas l'exact reflet de la réalité. En fait, le corps humain est normalement colonisé par un grand nombre de germes qui constituent la « flore normale ».

Il a été estimé qu'un individu adulte, homme ou femme, n'était qu'à 10% humain. Il y'a en effet 10^{14} cellules chez un homme adulte, dont seules 10^{13} sont humaines. Les 9×10^{13} cellules restantes sont des bactéries, des champignons, des protozoaires ou appartiennent à des arthropodes de la flore normale.

La flore normale n'est pas répartie uniformément et certains sites sont normalement stériles. A leur niveau, la mise en évidence d'un micro-organisme signe une infection.

L'infection survient quand ces micro-organismes accèdent à des sites normalement stériles.

Les bactéries constituent la plus grande part de la flore normale (Hart T. et Shears P. ; 2006).

2. L'emploi abusif des antibiotiques

L'absorption massive d'antibiotique perturbe fortement l'écosystème des bactéries qui vivent au contact de l'organisme. La plupart du temps, les bactéries utiles sont exterminées les premières. Il en résulte des maladies digestives (diarrhées). Mais, surtout, ces bactéries ne peuvent plus jouer leur rôle protecteur vis-à-vis des germes pathogènes qui, eux, résistent beaucoup mieux à la plupart des antibiotiques (Willem J-P ; 2012).

3. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Une bactérie peut devenir résistante à un antibiotique du jour au lendemain. Elle a à sa disposition, toute une gamme de mécanismes pour devenir résistante (Willem J-P ; 2012). Elles peuvent acquérir des gènes codant des enzymes, telles que les β -lactamases, qui détruisent l'agent antibactérien avant qu'il produise un effet. En plus, elles peuvent acquérir des pompes d'efflux qui extrudent l'agent antibactérien de la cellule avant qu'il n'atteigne le site de sa cible. Par ailleurs, les bactéries peuvent acquérir plusieurs gènes pour une voie métabolique qui aboutit à la production de parois cellulaires altérées ne contenant plus de sites de fixation des agents antimicrobiens aux sites intracellulaires des cibles via la régulation négative de gènes codant les porines.

Finalement, la résistance peut être acquise via l'échange génétique entre les bactéries, voire, la transformation (incorporation de segments d'ADN libérés dans le milieu extérieur par une autre bactérie après lyse cellulaire), la conjugaison (échange de gènes de résistance

entre deux bactéries via le contact physique) ou la transduction (transfert des gènes de résistance entre les bactéries via les bactériophages) (Medjahed Z. ; 2016).

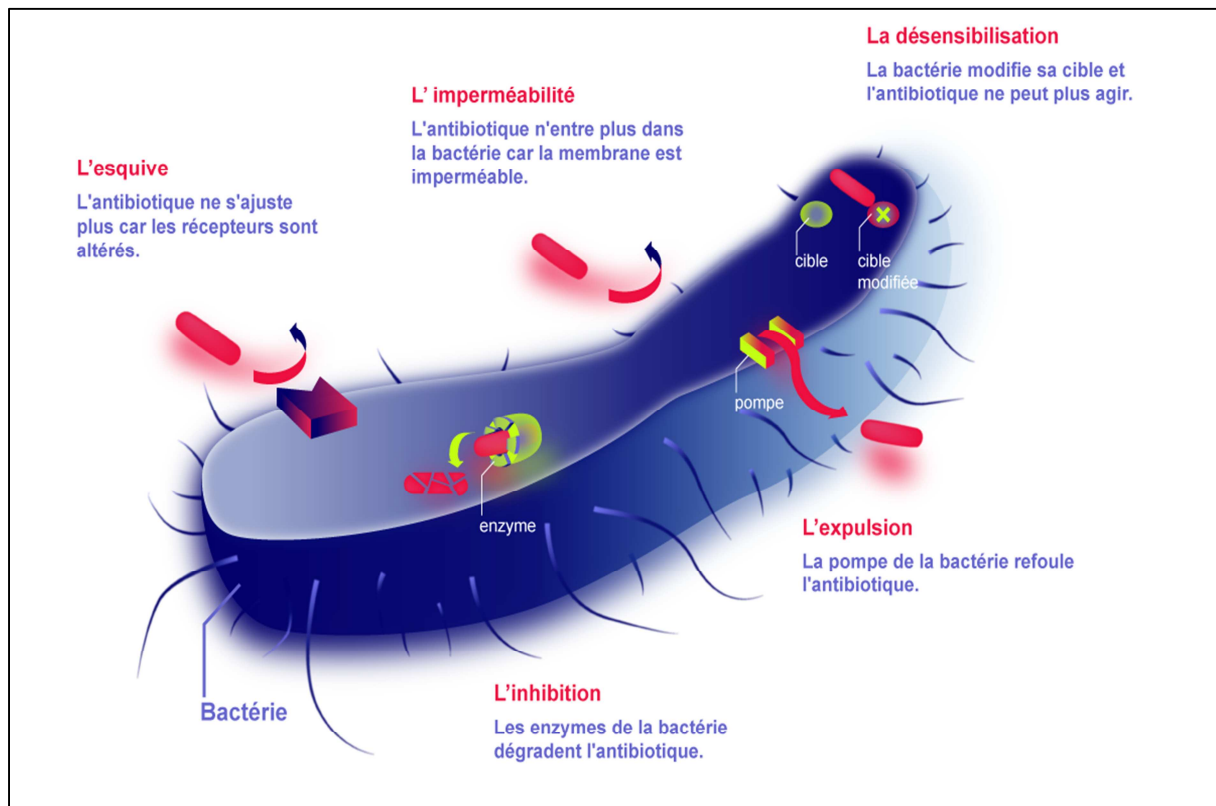


Figure 12 : mécanismes de résistances des bactéries aux antibiotiques

4. Conséquence de la résistance d'une bactérie


La bactérie qui a acquis cette résistance survit à l'antibiotique alors que les autres bactéries sensibles sont éliminées. Cette résistance peut être transmise à d'autres bactéries ce qui augmente finalement le risque de dissémination.

De ce fait, la maladie due à cette bactérie continue à se développer et ne pourra plus être soignée efficacement avec les traitements habituels (Willem J-P ; 2012).

Il apparaît donc indispensable de développer de nouvelles voies de recherche pour aboutir à des alternatives pouvant contrer la croissance galopante de cette biorésistance des souches microbiennes qui entraîne l'inefficacité de plus en plus fréquente des différents groupes moléculaires et chimiques d'antibiotiques utilisés (Aouni M. et al ; 2013).

Partie II :

Partie expérimentale

The page is framed by an orange border that resembles a scroll. The top and bottom edges are straight, while the left and right edges are curved, with the top corners featuring small circular motifs that look like the ends of rolled-up paper.

CHAPITRE I

Matériels et méthodes

Nos expérimentations ont été réalisées au niveau de différents laboratoires : les laboratoires communs I et II d'analyses physico-chimiques pour l'étude anatomique du rhizome, l'extraction et l'étude qualitative et quantitative des polyphénols et flavonoïdes; le laboratoire de recherche en entomologie appliqué, département Biologie, faculté de Bastos, pour l'extraction de l'huile essentielle. Et enfin, Le laboratoire de microbiologie, centre hospitalo-universitaire Nadir Mohamed, Tizi-Ouzou, pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur une partie bien définie du gingembre, il s'agit du rhizome frais. Les rhizomes ont été procurés de chez un herboriste de la willaya de Tizi Ouzou. Ils sont importés de chine.



Figure 13 : Rhizomes frais de *Zingiber Officinale L.*

2. Méthodologie

2.1. Etude botanique de la plante

2.1.1. Etude anatomique du rhizome

Afin de mettre en évidence les sites sécréteurs de l'huile essentielle du gingembre, nous avons réalisé une étude histologique du rhizome frais par la mise en pratique d'une technique dite la méthode de la double coloration.

✓ Principe

Les tests cytochimiques permettent de localiser précisément une substance constitutive. Cette technique, permet de distinguer les tissus dont la paroi est essentiellement pecto-cellulosique (coloration rose à rouge) de ceux dont la paroi est imprégnée de lignine ou de substance proche (coloration verte ou bleu, parfois violette). Les différences de coloration ne reposent pas sur une spécificité réelle des deux colorants, mais plutôt sur des affinités relatives différentes (Roger P. ; 2007)

✓ Mode opératoire

- A- on réalise des coupes transversales très fine du rhizome, à l'aide d'une lame.
- B- A l'aide d'une pince, les coupes sont déposées successivement dans :
 - a- Hypochlorite de sodium (eau de javel) pendant 10 minutes, afin de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique
 - b- Eau distillé (3 bain)
 - c- Acide acétique à 1% pendant 5min afin de neutraliser l'effet de l'hypochlorite de sodium
 - d- Eau distillé (3 bain)
 - e- Vert de méthyle pendant 1 à 2 min (le vert de méthyle colore sélectivement les parois lignifiées et sclérifiées en vert)
 - f- Eau distillé (3 bain)
 - g- Rouge Congo pendant 5 minutes (le rouge Congo colore les parois cellulose en rose)
 - h- Rinçage à l'eau distillée et récupération des coupes.

Les meilleures coupes (les plus fines) sont sélectionnées, montées entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine puis observées au microscope optique au grossissement 10×10 (aspect général) et 40×40 (aspect détaillé). Les figures (12 et 13) résument les étapes de la double coloration des coupes du rhizome de gingembre.

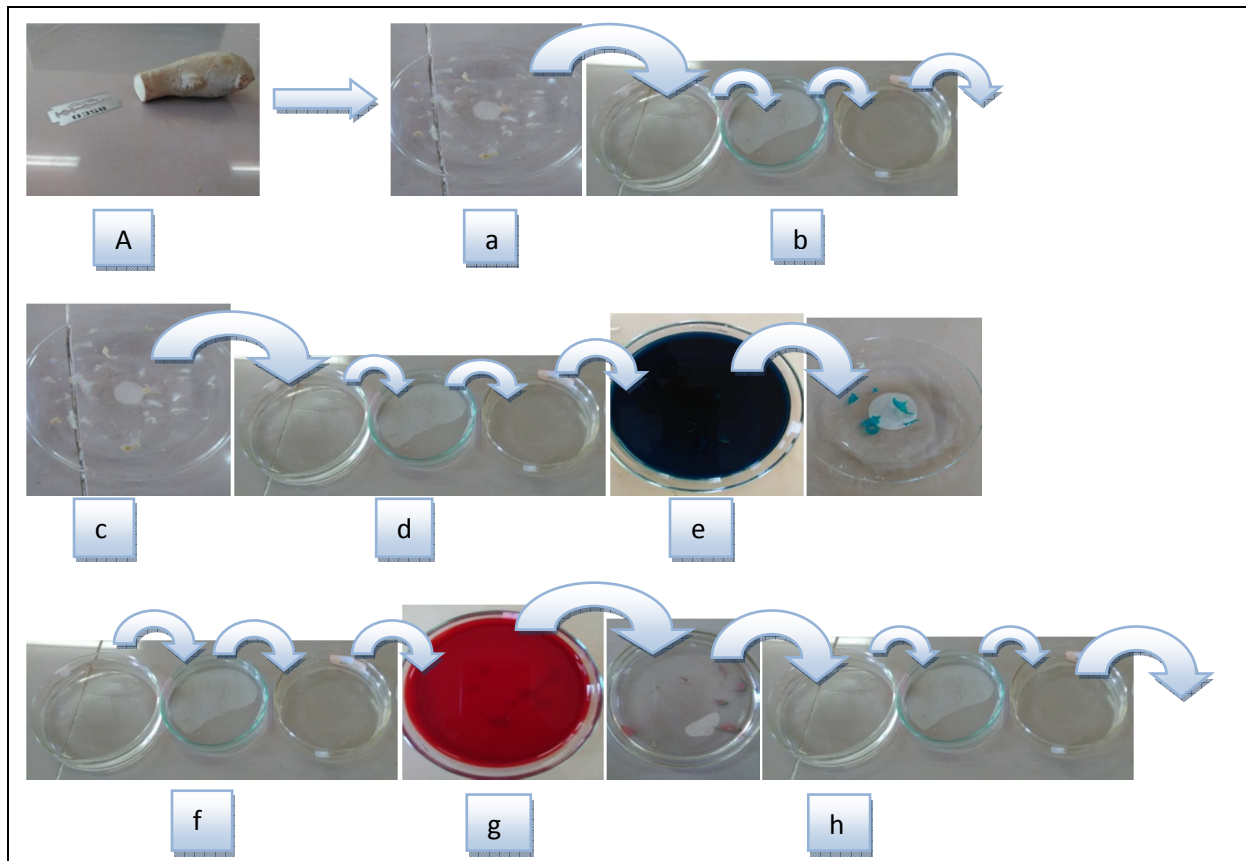


Figure 14 : schéma représentant les étapes de la double coloration

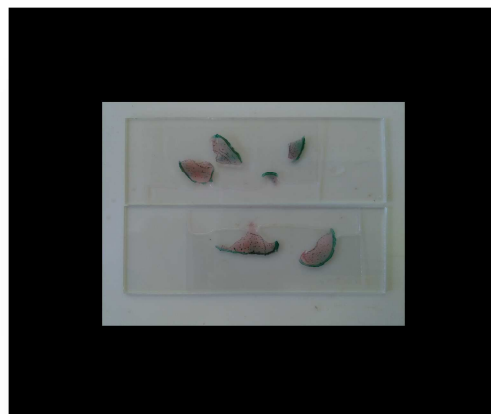


Figure 15 : Montage entre lame et lamelle

2.2. Etude biochimique de la plante

2.2.1. Préparation du matériel végétal

La préparation des échantillons est une étape primordiale pour toute analyse fiable, elle consiste au séchage suivie du broyage du rhizome.

✚ Séchage

Les végétaux sont très riches en eau, ce qui favorise l'altération des principes actifs s'y trouvant à travers l'activation de nombreuses enzymes, en particulier les phénols-oxydase et les glycosidases (Medjahed Z. ; 20016). C'est pourquoi un séchage a été réalisé au préalable. Les rhizomes ont été coupés soigneusement en fines tranches à l'aide d'un couteau non métallique à fin d'éviter tout risque d'oxydation ou de détérioration du matériel végétal. Ainsi, elles sont étalées sur un support sain et soumises au séchage à l'air libre, à l'abri des rayons du soleil.



Figure 16 : Rhizome coupé et mis à sécher à l'air libre

✚ Taux d'humidité :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans le végétal frais. La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \left(\frac{P_0 - P_f}{P_0} \right) \times 100$$

Avec :

H(%) : humidité ;

P₀ : représente le poids initial de l'échantillon (avant séchage) ;

P_f : représente le poids final de l'échantillon (après séchage).

Broyage :

L'analyse de la concentration ou de l'activité d'une biomolécule débute souvent par une étape de broyage des cellules ou des tissus. Ce broyage permet de rompre les membranes cellulaires et la matière extracellulaire et de libérer les organites et les molécules contenues dans la cellule. (Lafront O. et Duval D.; 2001)

Après l'opération de séchage, on le soumet au broyage à l'aide d'un broyeur électrique en Inox (acier inoxydable) à fin d'obtenir une poudre.

Cette poudre est conservée dans des bocaux en verre, recouvert d'aluminium, hermétiquement scellés et à l'abri de la lumière.

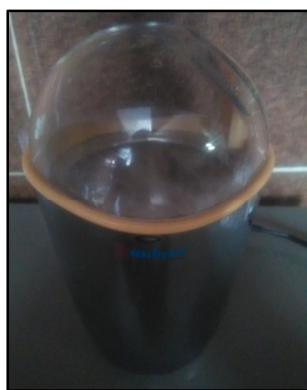


Figure 17 : Broyeur électrique **Figure 18:** gingembre sec **Figure19 :** poudre de gingembre

2.2.2. Procédés d'extraction

2.2.2.1. Extractions des composés phénoliques

➤ Extraction des polyphénols totaux

L'extraction des PTT a été réalisée par une méthode conventionnelle, la macération, dans un solvant organique, le méthanol à 70%, suivant le protocole décrit ci-dessous (**fig.20**)

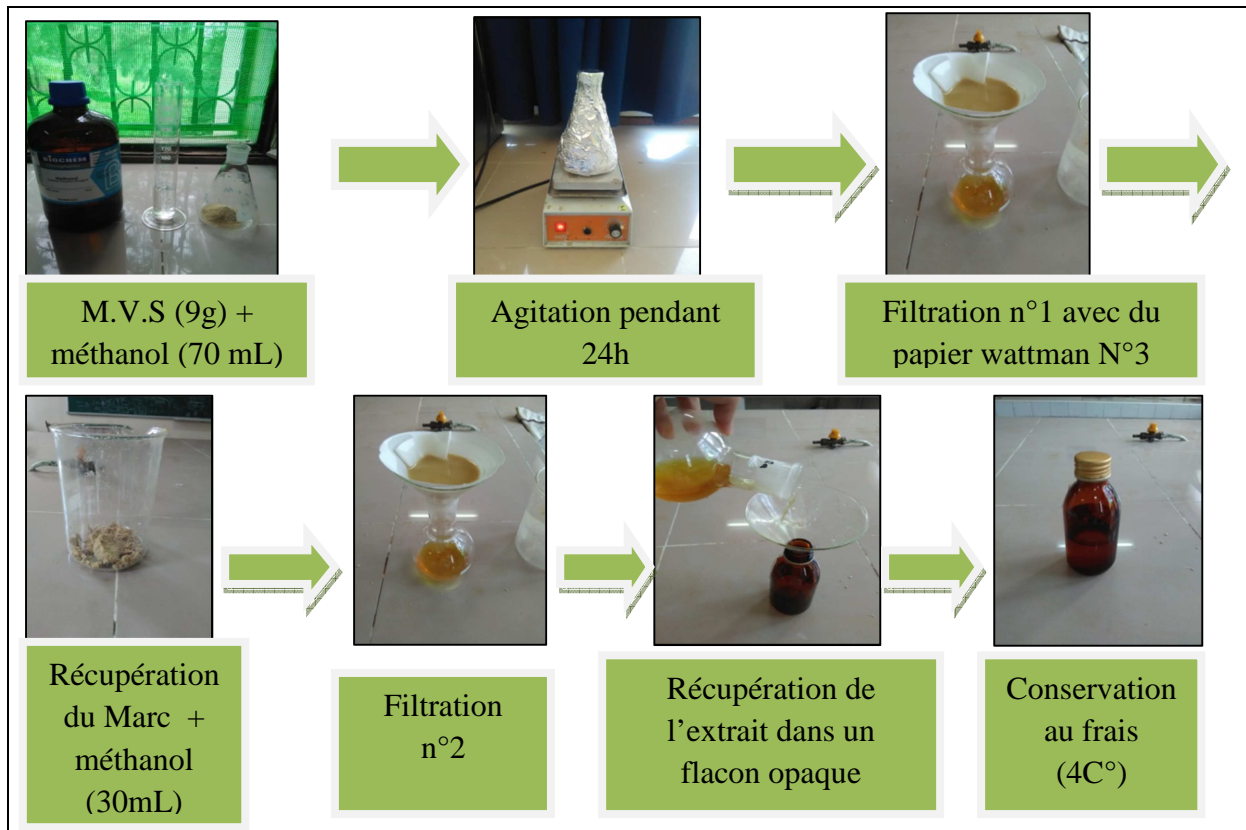


Figure 20 : Protocole d'extraction des PTT

➤ Extraction des flavonoïdes

La méthode d'extraction utilisée a été mise au point par Bate-Smith (1954), reprise par Lebreton (1967) puis par Jay *et al.* (1975) et enfin améliorée par Laracine (1984).

✓ Principe

Elle consiste en l'extraction et la séparation des flavonoïdes par hydrolyse acide et à chaud de la poudre végétal (la liaison C-O-C des O-glycosyl-flavonoïdes est très fragile et se rompt à l'hydrolyse acide en libérant les aglycones ; par contre la liaison C-C des C-glycosyl-flavonoïdes est très résistante à ce type d'hydrolyse) et permet d'obtenir deux types de composés :

- Une fraction d'aglycone et d'acides phénols par l'extraction préliminaire à l'éther diéthylique
- Une fraction de C-glycosides et d'anthocyanes récupérée par l'extraction au n-butanol.

✓ Mode opératoire

L'extraction a été réalisée par hydrolyse de 1 g de matériel végétal sec (M.V.S) dans 40 ml d'HCL (2N) au bain marie, bouillant pendant 40 min.

A chaque extraction deux phases apparaissent, l'une supérieure dite épiphase et l'autre inférieure dite hypophase.

L'épiphase étherée est récupérée après chacune des extractions dans un bécher et évaporé à l'air libre. Le résidu sec est repris dans 10ml d'éthanol.

L'hypophase acide est récupérée et additionnée à 35ml de 2-butanol.

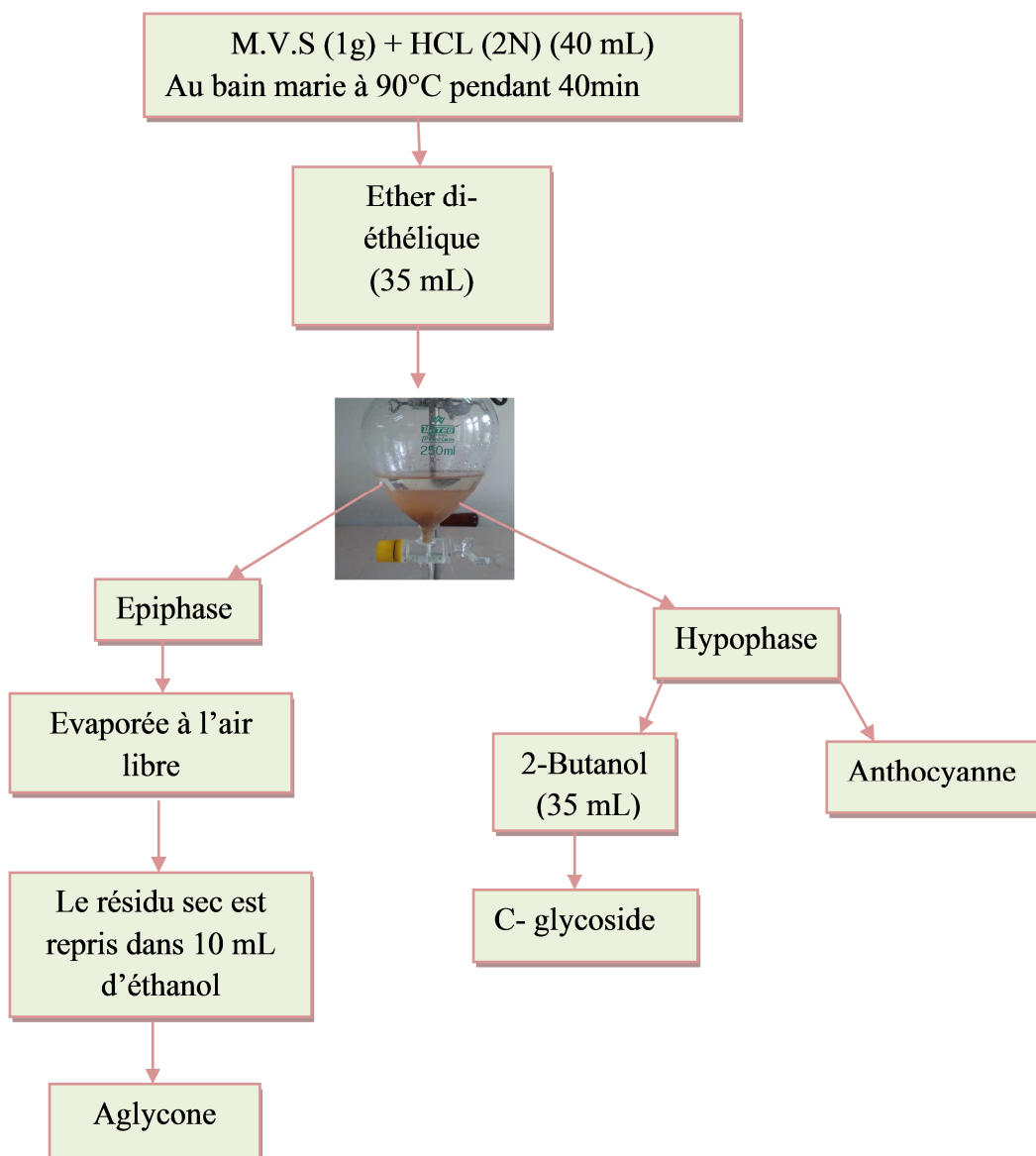


Figure 21 : Protocole d'extraction des flavonoïdes (Alilou H. *et al.*2014)

2.2.2.2. Extraction de l'huile essentielle

L'hydrodistillation est la méthode standard décrite dans la pharmacopée pour l'extraction de l'huile essentielle du gingembre.

✓ Principe

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation] dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. (Bruneton J. ; 2001).

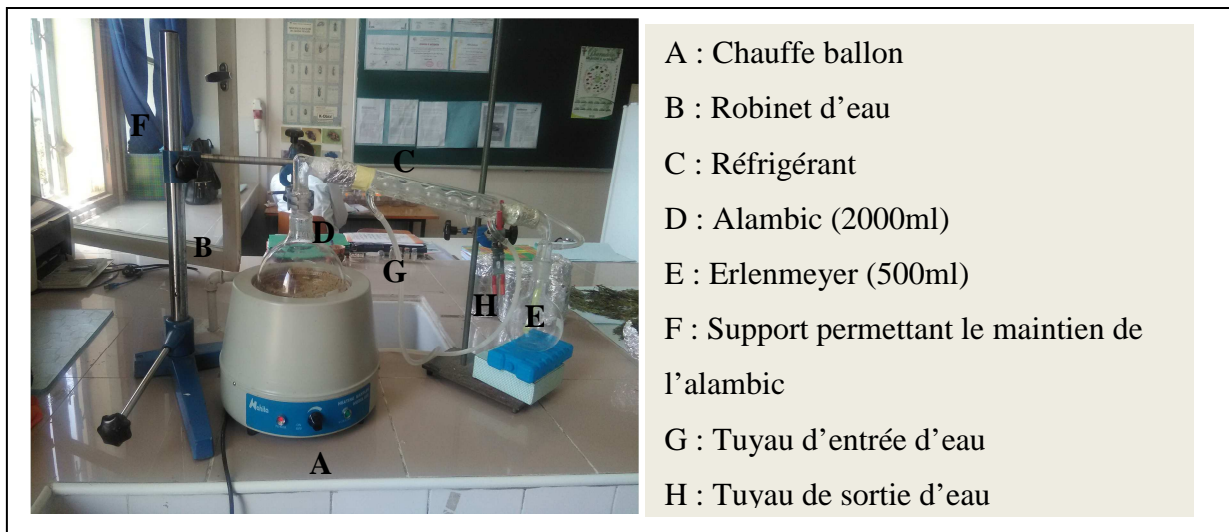


Figure 22 : Dispositif d'hydrodistillation

✓ Mode opératoire

50g de broyat du rhizome sont mis en contact avec 1000 ml d'eau distillée dans un alambic, le tout est portée à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon, ce qui induit la formation d'une vapeur qui entraîne les constituants volatiles de la poudre. Au contact des parois du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et coulent au goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat, ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielle + hydrolat), le processus d'hydrodistillation dure 3h.

L'huile essentielle est récupéré par décantation à l'aide d'une ampoule à décompté.

L'huile essentielle obtenue, ainsi que l'hydrolat sont conservées dans des flacons en verre opaque à une température de 4°C.

2.2.3. Criblage phytochimique

C'est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. (Muanda FN. ; 2010)

➤ Caractérisation des polyphénols totaux (réaction au FeCl₃)

Test (1) : 400mg de poudre du rhizome sont additionné à 4ml d'eau distillée et 12ml d'acétone, le tous est placé dans un bain marie à 60°C pendant 5min, agitation puis filtration avec du papier wattman n°1, 2gouttes FeCl₃ à 10% sont ajouté au filtrat. (Bouquet et Fouret 1975)

Test (2) : à 2ml de l'extrait méthanolique sont ajoutées quelques gouttes de FeCl₃ (10%) (Békro et al, 2007)

La présence de polyphénols totaux est détectée par un changement de coloration vers une couleur plus foncée.

➤ Caractérisation des flavonoides

Macérer 2g de la plante en poudre dans 40ml de HCl dilué 1% pendant 24h. Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout d'une solution NH₄OH. L'apparition d'une couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes (Bouchouka E. ; 2016).

➤ Caractérisation des aglycones flavoniques (réaction à la cyanidine)

A 1ml d'extrait méthanolique sont ajouté quelques centigrammes 'cg' de magnésium (mg) puis quelques gouttes d'acides sulfurique concentré (H₂SO₄).

L'apparition d'une coloration spécifique du noyau flavonique indique la présence de flavonoides.

Tableau IV : coloration caractéristiques de chaque type de flavonoides

Coloration	Types de flavonoides
Rouge cerise	Flavonols
Orange	Flavones
Rouge violacé	Flavanones
Absence de coloration	Chalcones

➤ Caractérisation des anthocyannes

A 5ml d'extrait méthanolique sont ajouté 5ml d'acide sulfurique puis 5ml NH₄OH. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanne.

2.2.4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

✓ Principe de la spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre (figure 21) préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.



Figure 23: spectrophotomètre UV-visible

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . L'absorbance de la solution est définie comme suit :

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible. (Muanda FN. ; 2010)

2.2.4.1. Estimations quantitatives des polyphénols totaux (PTT)

La détermination de la concentration en PTT de l'extrait méthanolique du gingembre est réalisée par la méthode Follin Ciocalteu.

✓ Principe

Le réactif Follin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de coloration jaune (Boubekri C. ; 2014). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénolique par ce réactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu (Muanda FN. ; 2010). La coloration produite absorbe à un maximum compris entre 725 et 760 nm et est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot N. et Carpentier JL. ; 2006).



Figure 24 : solution Follin siocalteu (1/10)

✓ Mode opératoire

Le protocole expérimental suivi est celui décrit par Li et al. (2007).

200 μ l de l'extrait PTT sont mélangées avec 1ml de réactif de Follin Ciocalteu (1/10). Après 4 minutes, 800 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7,5g/l sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 1 à 2h à T° ambiante et à l'obscurité.

L'absorbance est mesuré à 760nm contre un blanc. (Ouzid Y. et al. 2018)

Une courbe d'étalonnage aux concentrations allant de 0.03 à 3 mg/l est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoire en utilisant l'acide gallique comme standard.

✓ Expression des résultats

La teneur en PTT de l'extrait est calculé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, elle est exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS).

2.2.4.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

➤ Dosage des anthocyanes

La lecture des extraits s'établit par spectrophotométrie à 520 nm juste après extraction car elle se dégrade rapidement à la lumière. La teneur absolue en anthocyane est calculée par la formule suivante dont le coefficient correctif, est égale à 6 (Lebreton *et al.*; 1967)

$$T(\text{mg/g}) = 5,2 \cdot 10^{-2} \cdot \text{DO} \cdot V \cdot d/p$$

DO : densité optique

V : volume de la phase étherée.

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé

➤ Dosage des C-glycosylflavones

La lecture des extraits s'établit également par spectrophotométrie à 340nm et la teneur absolue est exprimée en Orientine et calculée par la formule suivante :

$$T(\text{mg/g}) = 2,37 \cdot 10^{-2} \cdot \text{DO} \cdot V \cdot d/p$$

V : volume de la phase butanolique.

➤ Dosage des aglycones flavonique

Les flavonoïdes ayant un hydroxyle (-OH) libre en position 3 et 5 réagissent avec les métaux. Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme un complexe avec les flavones et/ou les flavonols. Pour déterminer la teneur en aglycones, on utilise la méthode du dosage différentiel, qui est basé sur deux dilutions :

- La 1^{ère} dilution se fait dans de l'éthanol (extrait étheré + éthanol 95°)
- La 2^{ème} dilution se fait dans la solution d'AlCl₃ (extrait étheré + AlCl₃ dans l'éthanol 95°)

A partir du résidu sec étheré repris dans de l'éthanol à 95° et d'autre part avec du chlorure d'aluminium à 1%, après réaction pendant 15 min, la lecture des aglycones se fera entre 400 et 435nm au spectrophotomètre.

Concernant le dosage des aglycone flavonique (420nm) et des flavonols (435nm), la formule utilisée est la suivante :

$$T(\text{mg/g}) = 1,3 \cdot 10^{-2} \cdot \Delta\text{DO} \cdot V \cdot d/p$$

ΔDO : densité optique au pic différentiel égale à $\text{DO}(\text{AlCl}_3) - \text{DO}(\text{éthanol } 95^\circ)$

V : volume de la solution éthanolique

2.2.4.3. Estimation du rendement en huile essentielle

Le rendement est la quantité maximal d'huile essentielle que fournit une masse donnée de végétal pendant une période déterminée.

Le rendement est calculé par la formule :

$$R(\%) = \frac{m\text{HE}}{m\text{MVS}} \times 100$$

Avec : $m\text{MVS} = m\text{MVf} (1 - \text{TH})$

$R(\%)$: Pourcentage du rendement.

$m\text{HE}$: masse de l'huile essentielle.

$m\text{MVS}$: masse de la matière végétale sèche.

$m\text{mvf}$: masse de matière végétale fraîche.

TH : teneur en eau.

2.3. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos échantillons a été réalisée en adoptant deux méthodes :

- 1- La méthode de diffusion en milieu solide.
- 2- La méthode de dilution en milieu solide.

Les souches proposées pour notre étude sont des souches de référence selon le référentiel international, l'American Type Culture Collection (ATCC).

Tableau V : généralités sur les différentes souches étudiées.

Bactéries	Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa
ATCC	25923	25922	27853
Famille	Staphylococcaceae	Entérobactériaceae	Pseudomonadaceae
Habitat	Commensale de la flore nasale, digestive et cutanée.	Flore digestive de l'homme et des animaux	Se trouve dans l'eau, sol humide, sur les végétaux, dans le tube digestif de l'homme et l'animale
Infections	Provoque deux types de syndromes : les toxi-infections ou toxémies staphylococciques, et les infections suppuratives.	Provoque des diarrhées sanglantes et produit une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU)	Infections nosocomiales, pulmonaires, cutanées, urinaires,...ect.
Résistance aux antibiotiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ β-lactamines ➤ Aminosides ➤ Glycopeptides 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ β-lactamines ➤ Aminosides ➤ Fluoroquinones 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ β-lactamines ➤ Aminosides ➤ Fluoroquinones

2.3.1. Test de contrôle interne

Afin de confirmer l'identité ainsi que la pureté des souches à testées nous avons procédé à différents testes de routine du laboratoire de microbiologie.

1- Ré isolement des colonies bactériennes :

- Sur milieu non sélectif : gélose nutritive.
- Sur milieux sélectifs : milieu Hecktoèn et milieu Chapman.

2- L'état frais

L'observation des bactéries vivantes permet de mettre en évidence leur mobilité, leur mode de groupement ainsi que leur morphologie.

On dépose 1 à 2 gouttes d'eau physiologique sur une lame, à l'aide d'une pipette pasteur, on prélève quelques colonies, qu'on dépose sur l'eau physiologique et on étale délicatement.

Observation sous microscope optique au grossissement $\times 40$.

3- Coloration de Gram

Par la coloration différentielle de Gram, les bactéries Gram positif (+) sont colorées en violet, les bactéries Gram négatif (-) sont colorées en rose, ceci étant du à une différence de composition de la paroi. Effectué à partir d'un frottis ou un étalement.

Le protocole expérimental suivi est décrit dans la figure 25 ci-dessous,

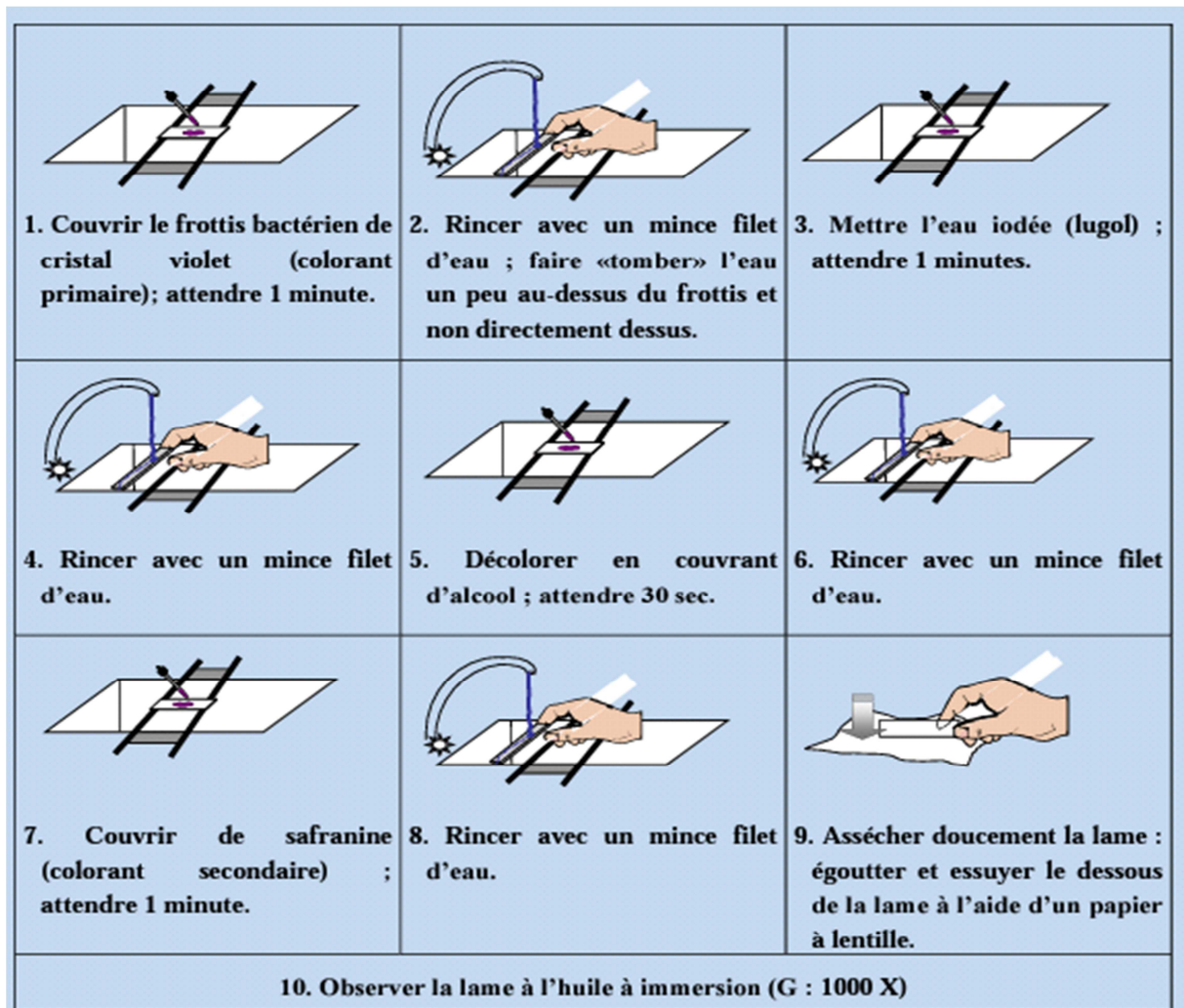


Figure 25: protocole expérimental de la coloration de Gram (Anonyme ; 2015)

4- La catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le test consiste à mettre en contact la bactérie avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La formation de bulles d'airs confirme la présence de l'enzyme catalase.

5- TSI-Gélose

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production du sulfure d'hydrogène.

A l'aide d'une anse de koch on prélève quelques colonies qu'on étale sur la surface de la gélose TSI, puis on l'introduit sous le milieu.

Après incubation (18-24h), on observe la production d'acide sur la pente et dans le culot, et les productions de gaz et d' H_2S . Une pente alcaline et un culot acide (rouge/jaune) indique la fermentation du D-glucose uniquement. Une pente acide et un culot acide (jaune/jaune) indique la fermentation du D-glucose, du lactose et/ou du saccharose. Une pente alcaline et un culot alcalin (rouge/rouge) indique que ni le D-glucose ni le lactose n'ont été fermentés. Des fissures ou des bulles dans le milieu indiquent une production de gaz. Un précipité noir dans le culot indique une production d' H_2S .

6- Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

La sensibilité des bactéries vis-à-vis de différents antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme.

7- Tests biochimiques : Galerie API (Analytical Profile Index)

Elle permet d'analyser le métabolisme d'une colonie isolée sur boîte. Elle se présente sous la forme d'une série de petits tubes, correspondant chacun à un test biochimique spécifique.



Figure 26 : Galerie de tests biochimiques miniaturisée (Galerie API)

Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant être remplis, ou non. Chaque tube contient un substrat définis : (ONPG, ADH,...) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment.

La suspension bactérienne à analyser, est obtenue suite à une purification des colonies bactériennes sur milieu sélectif, elle est ensuite verser dans chacune des tubules, à l'aide d'une seringue suivant le protocole décrit dans le manuel livré avec le kit.

La galerie est ensuite incubée à 37°C pendant 24h.

La lecture de l'ensemble des réactions est réalisée suivant les instructions indiquées dans les tableaux de l'annexe n° 3

Les résultats de l'ensemble des réactions biochimiques : positives (+) ou négatives (-), de la Galeri API, sont portés par la suit sur un logiciel d'identification (API Web).

2.3.2. Méthode de diffusion sur milieu solide

a. Principe

Des disques de papiers buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaire correspondent à une absence de culture. (Burnichon N. et Texier A. ; 2003)

b. Mode opératoire

1. Repiquage

Les différentes souches bactériennes sont repiquées sur milieu GN, par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24h afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées.

2. Préparation de l'inoculum (suspension)

A partir de la culture jeune obtenue on prépare notre suspension bactérienne, en prélevant quelques colonies isolées qu'on dilue dans 9 ml d'eau physiologique stérile puis on mesure la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre UV, la densité doit être comprise entre (0.1-0.08).

3. Ensemencement

A l'aide d'un écouvillon imbibé de notre suspension, on étale la surface entière de la gélose Mueller Hinton à trois reprise, après chaque application on tourne la boîte de pétrie de

60° environ en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Enfin, on écouvillonne partout autour du bord de la surface de la gélose.

4. Des disques de papiers wattman stériles (6mm de diamètre) sont déposés à l'aide d'une pince sur la surface du milieu MH, puis 10µl de chaque extrait sont appliqués sur les disques correspondants.

5. Incubation en position inverse pendant 24h à 37°

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant à l'aide d'une règle à coulisse le diamètre de la zone d'inhibition.

2.3.3. Méthode de dilution sur milieu solide

2.3.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI de façon général est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24h (Basli L. et al ; 2012).

✓ Mode opératoire

Des volumes de [18ml ; 19ml ; 19.5ml ; 19.75ml ; 19.875ml] du milieu Muller Hinton en surfusion sont coulés dans des boites de pétri auxquels sont ajouté respectivement les volumes de [2ml ; 1ml ; 0.5ml ; 0.25ml ; 0.125ml] de l'extrait à testé; après solidification du milieu, des spots de 2µl et 5µl des suspensions bactériennes sont appliqués à la surface du milieu (MH + extrait).

Incubation à l'étuve pendant 24h à 37° C.

2.3.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est définie comme étant la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 à 24 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique.

✓ Mode opératoire

Pour les boites de pétries avec des concentrations de l'extrait supérieur ou égal à la CMI on cherche la CMB.

On applique des disques de papiers stériles sur la surface de chaque boite indiquant une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie, qu'on imprime par la suite sur des boites MH vierge afin de transférer toute culture invisible à l'œil nue.


Sur chaque boite sont indiqué la concentration, le nom de l'extrait et de la souche.

Incubation 24h à 37°

✓ **Expression des résultats**

Si $\frac{CMI}{CMB} \leq 4$ ou $\frac{CMI}{CMB} = 1$; $CMI = CMB$ ça implique un effet bactéricide.

Si $\frac{CMI}{CMB} \geq 4$ ça implique un effet bactériostatique.



CHAPITRE II

Résultats et Discussion

Ce chapitre présente tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs interprétations et discussions.

1. Résultats botaniques

1.1. Etude anatomique du rhizome

- **Caractère microscopiques**

Les résultats de l'étude anatomique du rhizome sont consignés dans les figures 27 et 28, ci-dessous :

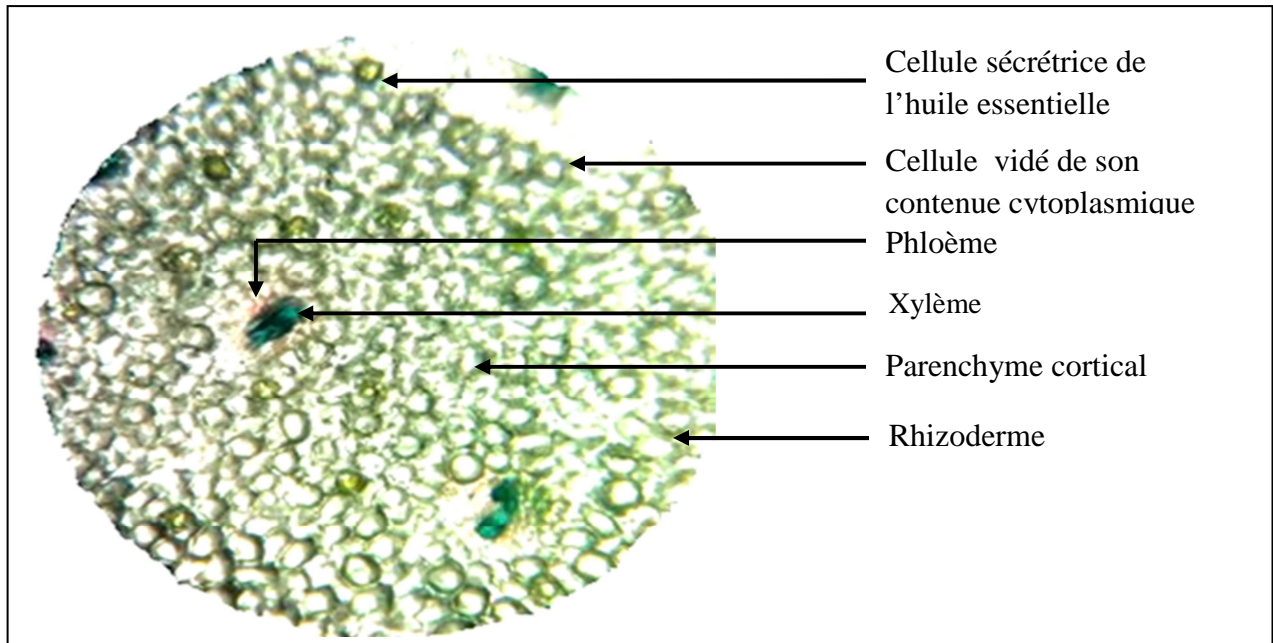


Figure 27 : Observation microscopique d'une coupe transversale du rhizome de gingembre au G 10×10 (aspect général de la coupe)

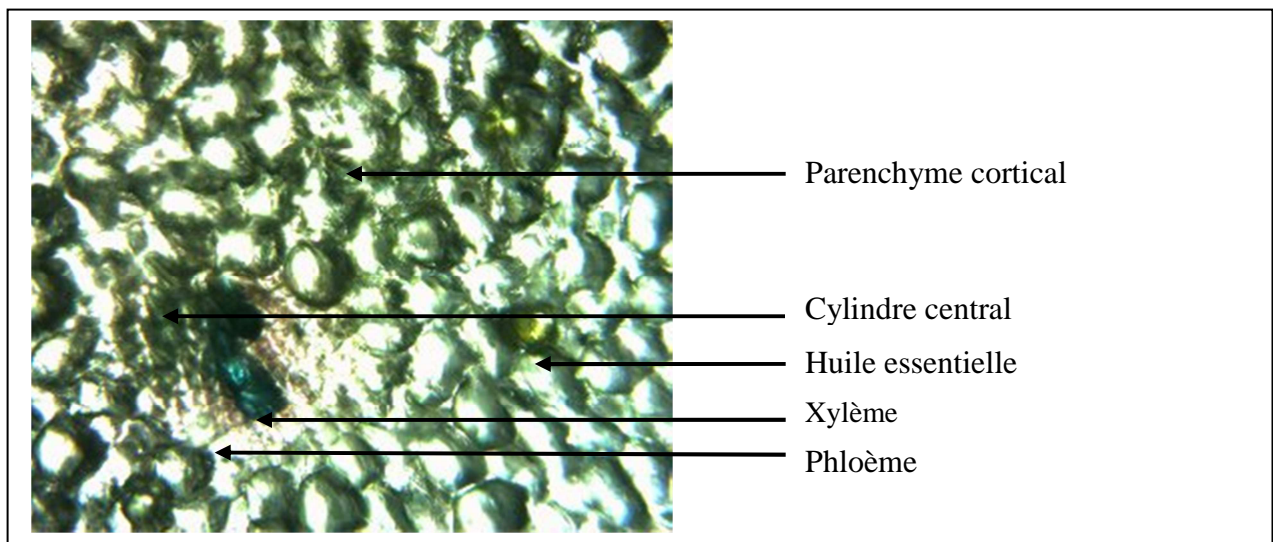


Figure 28 : Observation microscopique d'une coupe transversale du rhizome de gingembre au G 40×40 (aspect détaillé de la coupe)

L'observation microscopique de la coupe transversale du rhizome de gingembre au G 10 ×10 (aspect général de la coupe) et G 40×40 (aspect détaillé de la coupe) (**fig. 27 et 28**) nous a permis de distinguer de l'extérieur vers l'intérieur les tissus suivants :

- Un rhizoderme, assise protectrice.
- Un parenchyme cortical formé de cellules polygonales arrondies à paroi cellulosique fine, qui laisse apparaître des cellules sécrétrices d'huile essentielle caractéristique de la famille des zingibéracées.
- Un cylindre central contenant les structures conductrices organisées en arc de cercle entourées par des amas de fibres péricycliques à parois lignifiées.
- On distingue également la présence d'un bois secondaire, suivie par le liber secondaire.

Nos observations sont similaires à celles décrites par Wichtel *et al.* (2003) qui décrit l'aspect microscopique du rhizome du gingembre comme suit: sous le suber fin et irrégulier, se trouve une zone corticale étroite renfermant de nombreuses cellules à essence à contenu jaune ou jaune brun. Le cylindre central comporte également des faisceaux vasculaires collatéraux, accompagnés de fibres compartimentées à lumen large et de cellules à essence. Toutes les cellules parenchymateuses contiennent des grains d'amidon caractéristiques.

Selon Arvy MP. et Gallouin F. (2007) les cellules sécrétrices sont disséminées dans les parenchymes (tissus fondamentaux) de tous les organes ou dans l'épiderme (tissus de revêtement) des tiges, des feuilles, des fleurs ou des fruits. Les sécrétions, produites dans le cytoplasme de la cellule (matrice siège de nombreux phénomènes métaboliques), sont généralement stockées dans la cellule (exemple : le gingembre.). Dans la cellule végétale, les huiles essentielles peuvent se rassembler en gouttelettes dans le cytoplasme ou s'accumuler dans la vacuole.

1 2. Taux d'humidité

Les résultats du taux d'humidité du gingembre sont consignés dans la figure 29 ci-dessous :

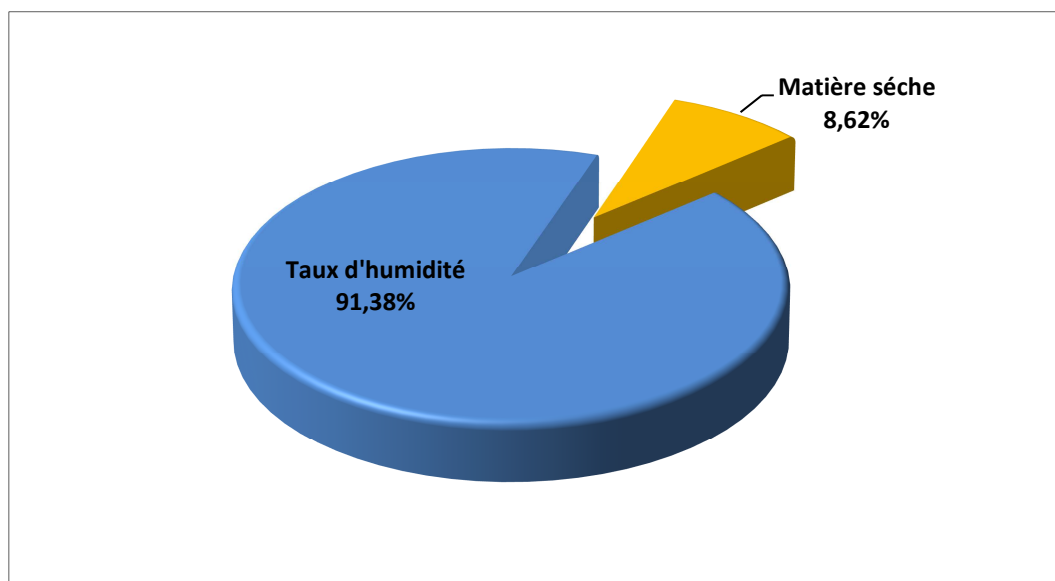


Figure 29 : Représentation du taux d'humidité du gingembre

L'analyse de la figure 26 montre que le taux d'humidité du gingembre est de 91,38%, la matière sèche ne représente que 8,62% du poids total.

Ces résultats confirment ceux trouvés par Ding *et al.* (2012), Jelled *et al.* (2015) et Ghoul N. ; Aouzlag A. (2016).

2. Résultats biochimiques

2.1. Estimations quantitatives des polyphénols totaux (PPT)

La teneur en PPT de l'extrait méthanolique est calculé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique consignés dans la figure 27 ci-dessous, elle est exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS).

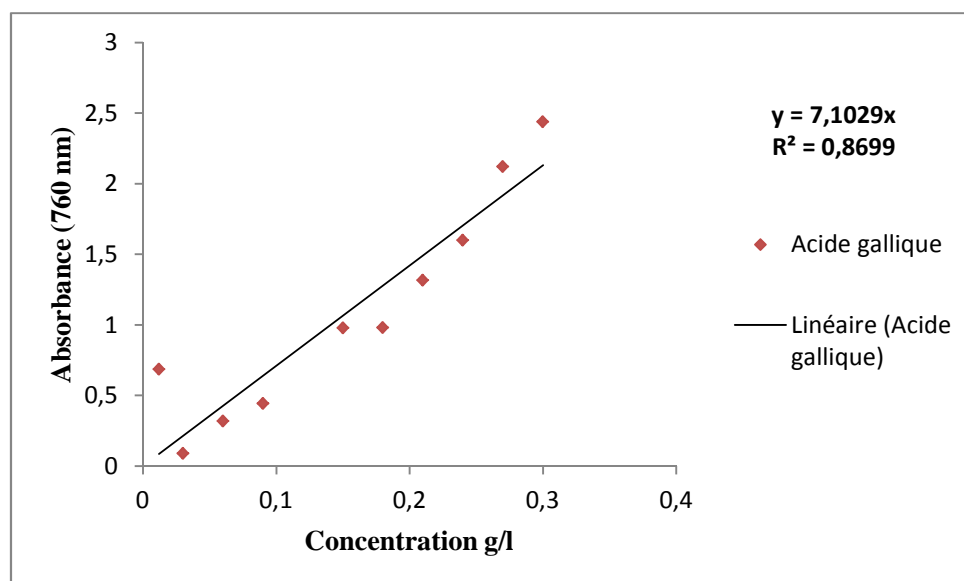


Figure 30: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Dans l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

$$Y = 7,0492X + 0,0116$$

Y est le taux d'absorption lue à une longueur d'onde de 760 nm et X est la concentration des composés phénoliques en g/l.

Le taux en polyphénols totaux contenue dans l'extrait méthanolique est estimé à :

$$25,28 \pm 0,070 \text{ mgEAG/gMS}$$

Le résultat du dosage des composés phénoliques contenus dans l'extrait méthanolique du gingembre sont conformes aux résultats rapportés par Sangwan *et al.* (2014) ; sonal et Kadimi (2014) ; Danciu *et al* (2015) et Li *et al* (2016) ; à l'exception de Ghasemzadech *et al.* (2010) et Mukherjee *et al.* (2014) qui ont rapporté des concentrations inférieure 13.5 mg/g et 16.95 mg/g respectivement et Akinola *et al.* (2014) ; Chan et al. (2008) ; Datta et al (2011) et Jelled et al (2015) qui ont rapportés une teneur en composés phénolique supérieur à celle obtenue dans le présent travail qui est de l'ordre de 90 mg/g.

Il est à retenir que l'efficacité de l'extraction est étroitement dépendante du pouvoir d'extraction du solvant utilisé et du temps d'extraction (Oueslati S. et al. 2018). Il est également important d'accentuer sur la difficulté de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduisent la fiabilité de la comparaison entre les études (Trabelsi *et al.* 2010). Certaines études récentes ont montré que les teneurs en composés phénoliques changent de façon considérables d'une espèce à une

autre et à l'intérieur de la même espèce (Ksouri et al., 2009), à cause des facteurs extrinsèques (température, climat...) (Ksouri et al., 2008), génétiques (la variétés et l'origine d'espèces) (Ebrahimzadeh et al., 2008) et physiologiques (le degré de maturation de la plante) (Maisuthisakul et al., 2007). De plus, la période, le lieu de récolte, les conditions et la durée de stockage influencent grandement sur les teneurs en composés phénoliques (Podsędek, 2007).

2.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes du gingembre sont consignés dans la figure 31 ci-dessous :

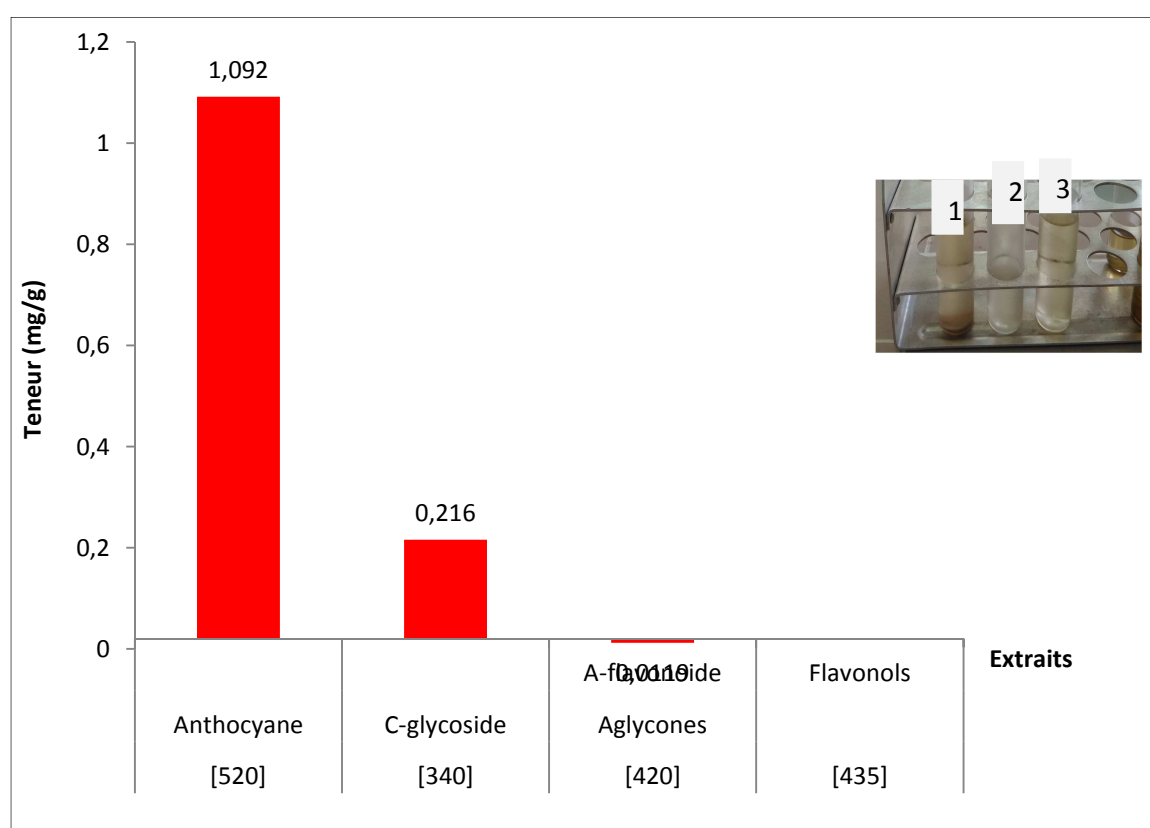


Figure 31 : Histogramme représentant la teneur du gingembre en flavonoides

L'analyse de la figure 31 , indique que la teneur en Anthocyane (tube n°1) est de 1,092 mg/g nettement très élevé par rapport à la teneur en C-glycosides (tube n°2) qui est de 0.216 mg/g et à celle des Aglycones de concentration 0.0119 mg/g qui est la plus faible.

2.3. Estimation du rendement en huile essentielle

- **Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle :**

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'essence du gingembre ont été notées.



Figure 32 : Huile essentielle du gingembre

L'huile essentielle obtenue à partir du broyat du gingembre, par la méthode d'hydrodistillation, est de couleur jaune à brune et à odeur forte, légèrement citronnée, très agréable. Ces caractéristiques sont conformes aux normes décrites selon AFNOR.

A partir de la formule :

$$R (\%) = \frac{mHE}{mMVS} \times 100$$


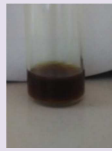



Avec : $mMVS = mMVF (1 - TH)$

Nous avons pu estimer le rendement en huile essentielle du gingembre, après extraction par hydrodistillation à 1.09% pour 1 kilo de gingembre sec, nos résultats sont proches de ceux rapportés dans la littérature, de 1 à 4.3% d'après Anton R. et al. (2005), de 1 à 2.5% pour Rombi M.; *et al* (2015), minimum 1.5% pour Faivre Cl. et al (2006), et de 1.5 à 3% selon Wichtl M. (2003). Cette différence de rendement en huile essentielle peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (Curado et al.; 2006).

2.4. Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur des extraits du gingembre sont représentés dans le tableau VI ci-dessous :

Tableau VI : Résultats du criblage phytochimique

Métabolites	Réaction		Coloration
Polyphénols totaux	Test1	+	
	Test2	++	
Flavonoides		++	
Aglycones flavonique		+	
Anthocyanes		+++	

(+) : réaction faiblement positive (++) : réaction moyennement positive ; (+++) réaction fortement positive ; (-) : réaction négative

D'après les résultats du tableau VII, on constate que les tests phytochimiques réalisés ont permis de révéler la présence des différents métabolites : Polyphénols, Flavonoides, Aglycones et Anthocyanes par l'apparition de colorations spécifiques.

3. Activité antibactérienne

Il est à noter que l'ensemble des tests cités ci-dessous sont réalisés dans des conditions aseptiques.

3.1. Test de contrôle interne

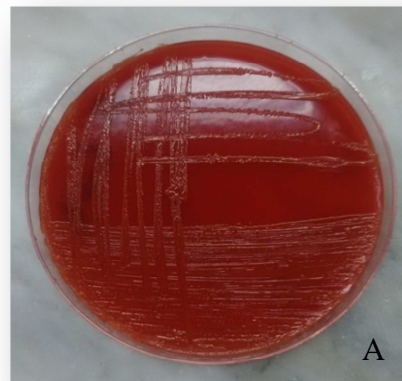
✚ Identification des espèces bactériennes

1- Ré-isolement

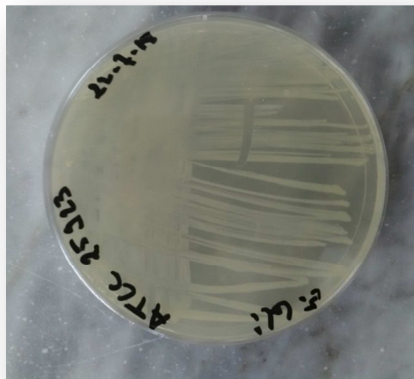
Les résultats du ré-isolement des bactéries : *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* sont illustrés dans la figure 33 ci-dessous :



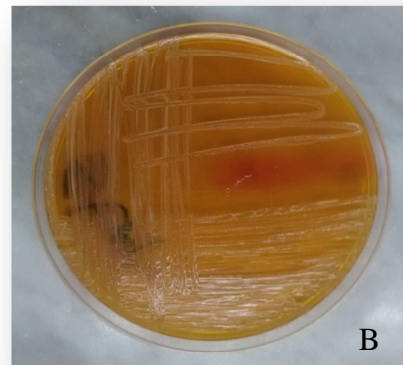
Milieu GN



Milieu Chapman



Milieu GN



Milieu Hektoen

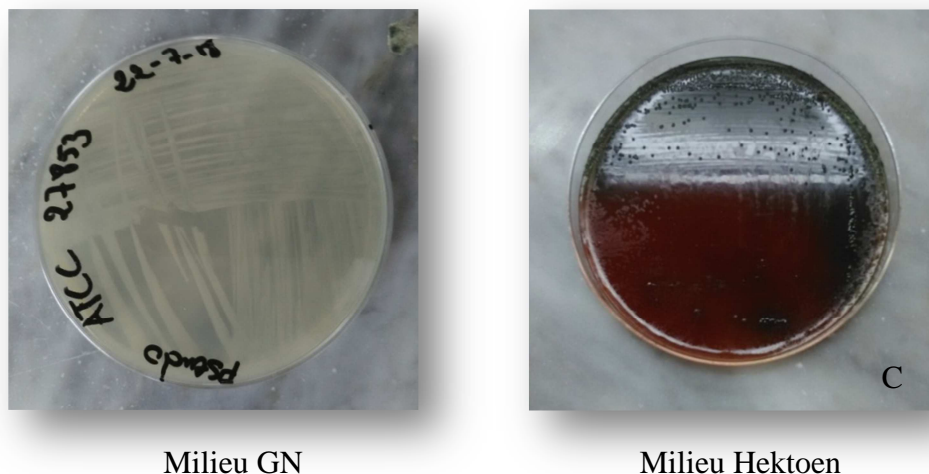


Figure 33 : photographie de la croissance des différentes souches bactérienne après ré-isolement au bout de 24h d'incubation

A : *Pseudomonas aeruginosa* B : *Escherichia coli* C : *Staphylococcus aureus*

Au bout de 24h d'incubation à l'étuve, nous avons pu constater le développement des trois germes : *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, sur le milieu gélose nutritive (GN), qui est un milieu non-sélectif, ce qui nous confirme qu'il s'agit de bactéries non-exigeantes.

Nous avons pu également observer leur développement sur leur milieu sélectif respectif : la multiplication d'*E.coli* et *P. aeruginosa* sur le milieu Hektoen ainsi que la multiplication de *S. aureus* sur le milieu Chapman.

2- L'état frais

Les résultats des observations microscopiques des différentes souches bactériennes à l'état frais (vivantes) sont illustrés dans les figures 34, 35, 36 et le tableau VII ci-dessous :

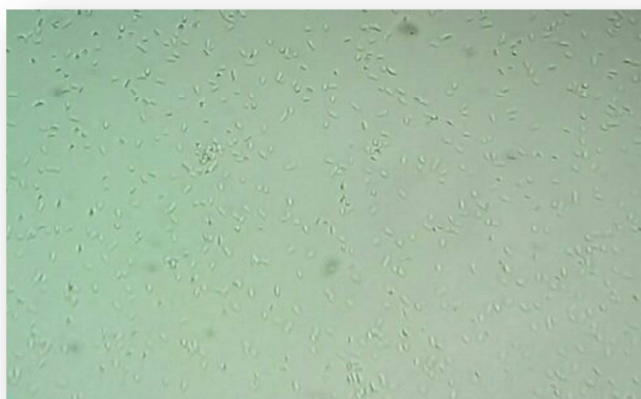


Figure 34 : photographie d'*Escherichia coli* vu sous microscope optique (G×100)

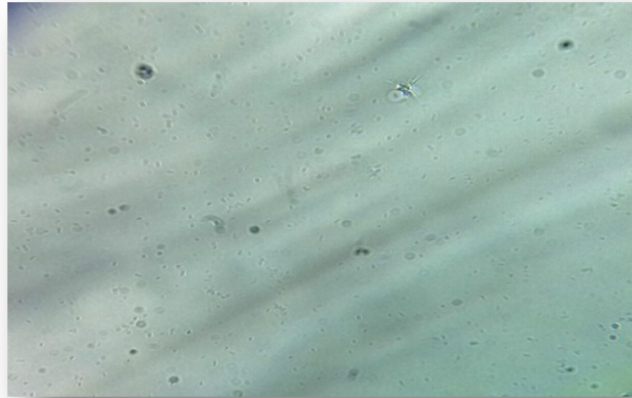


Figure 35 : photographie de *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope optique (G×100)

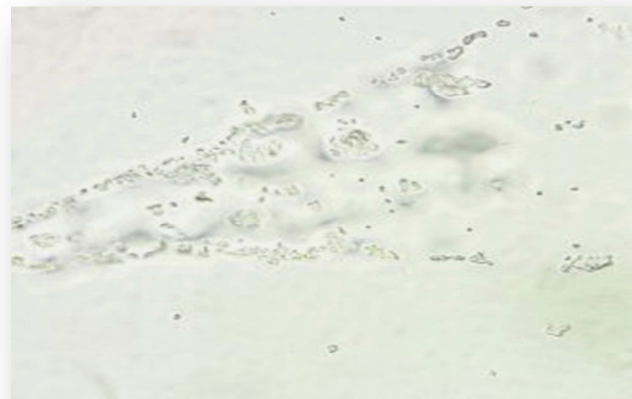


Figure 36: photographie de *Staphylococcus aureus* vue au microscope optique (G×100)

Tableau VII : Résultats des observations microscopiques des bactéries à l'état frais.

Bactéries	Morphologie	Mode de groupement	Mobilité
<i>E. coli</i>	coccobacille	Isolé, groupé par 2	Mobile
<i>P. aeruginosa</i>	Bacille fin	Isolé	Mobile
<i>S. aureus</i>	coque	En amas	Immobile

3- Coloration de Gram

Les résultats du test de la coloration de Gram sont illustrés dans les figures 37, 38 et le tableau ci-dessous :

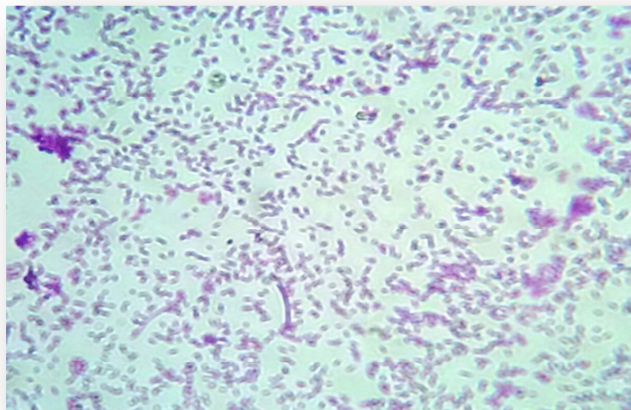


Figure 37 : photographie d'*Escherichia coli* vue au microscope optique (G×100) après coloration de Gram

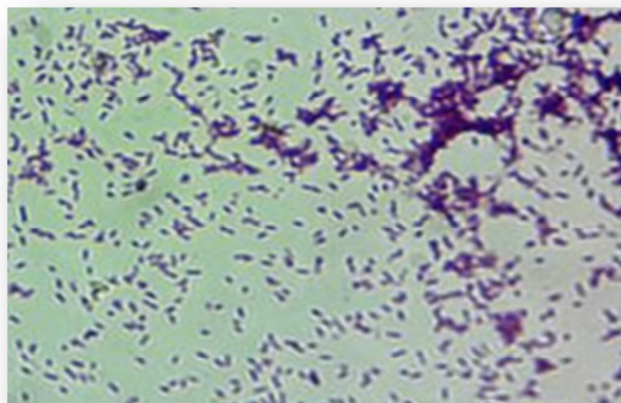


Figure 38: photographie de *Staphylococcus aureus* vue au microscope optique (G×100) après coloration de Gram

Tableau VIII : Résultats des observations microscopiques des bactéries après coloration de Gram.

Bactéries	Coloration	Gram
<i>E. coli</i>	Rose	-
<i>P. aeruginosa</i>	Rose	-
<i>S. aureus</i>	violet	+

4- La catalase (test enzymatique)

Les résultats de la catalase sont illustrés dans la figure 39, ci-dessous :



Figure 39 : Réaction à la catalase obtenue successivement pour les 3 germes testés.

Les bactéries possédant l'enzyme catalase peuvent transformer le peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 (toxique), en H_2O et O_2 , lequel est dégagé sous forme de gaz et entraîne la formation de bulles. On les dit « catalase + »



D'après la figure 36 on observe la formation de bulles d'air (relatives à la formation d' O_2) pour les 3 souches testés, ce qui confirme qu'il s'agit de bactéries à catalase positive.

5- TSI-Gélose

Les résultats du test TSI-Gélose réalisé sur les deux souches bactériennes *E. coli* et *P. aeruginosa* sont consignés dans la figure 40 et le tableau IX.

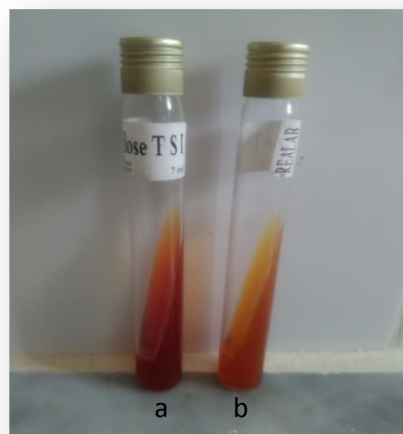


Figure 40 : photographie des résultats du test TSI Géllose après 24h d'incubation
a : *Pseudomonas aeruginosa* b : *Escherichia coli*

Tableau IX : résultats du test TSI Géllose après 24h d'incubation

Souches testés	Pente	Culot	Gaz	H ₂ S
<i>E. coli</i>	A(K)	A	+(-)	-
<i>P. aeruginosa</i>	A	A	-	-

A = acide, K= alcaline, ()= indique des réactions occasionnelles

D'après la figure 40 et le tableau nous constatons une pente acide et un culot acide ce qui indique la fermentation du D-glucose, du lactose et/ou du saccharose. Nous n'avons pas constaté les réactions indiquant la production de gaz ou d'H₂S. Ces observations concernent les deux souches testées : *E. coli* et *P. aeruginosa*. Elles confirment leurs identités.

6- Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

Les résultats de l'antibiogramme sont portés dans les tableaux des annexes I, II et III.

7- Tests biochimiques (Galerie API-20)

Les résultats de la galerie miniaturisée API-20 sont illustrées dans les figures 41 ; 42 et les tableaux X et XI.



Figure 41 : photographie des résultats de la galerie API-20 pour *Escherichia coli*

Tableau X : Résultats de la galerie API20 pour *E. coli* repris du logiciel API Web

Profil douteux

Galerie	API 20 E V 4 0			
Profil	7145552			
Note (s)				
Taxons significatif (s)	% ID	T	Test (s) à l'encontre	
<i>Escherichia coli</i> 1	97.7	0.18	ADH 1%	VP 0%
Taxon suivant	% ID	T	Test (s) à l'encontre	
<i>Salmonella arizonae</i>	1.9	0.0	CIT 75%	H2S 99% IND 1% VP 0%



Figure 42 : photographie des résultats de la galerie API-20 pour *Pseudomonas aeruginosa*

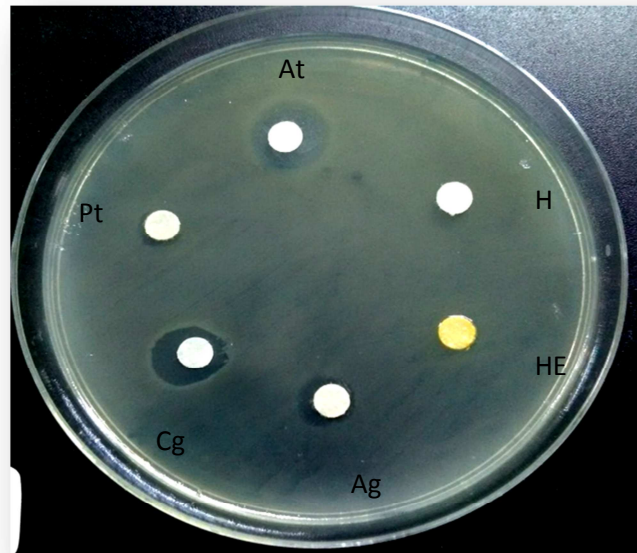
Tableau XI : Résultats de la galerie API20 pour *P. aeruginosa* repris du logiciel API Web**Profil douteux**

Galerie	API 20 E V 4 0					
Profil	220200477					
Note (s)						
Taxons significatif (s)	% ID	T	Test (s) à l'encontre			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54.0	0.36	NO ₂ 12%	OF/F 0%		
<i>Chromobacterium violaceum</i>	45.8	0.22	GLU 99%	N ₂ 0%		
Taxon suivant	% ID	T	Test (s) à l'encontre			
Non fermenter spp	0.1	0.0	ADH 1%	GEL 9%	OF/F 0%	
Test(s) complémentaire(s)	42°C	XYLOSE				
<i>Chromobacterium violaceum</i>	-	2%				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	98%	+				

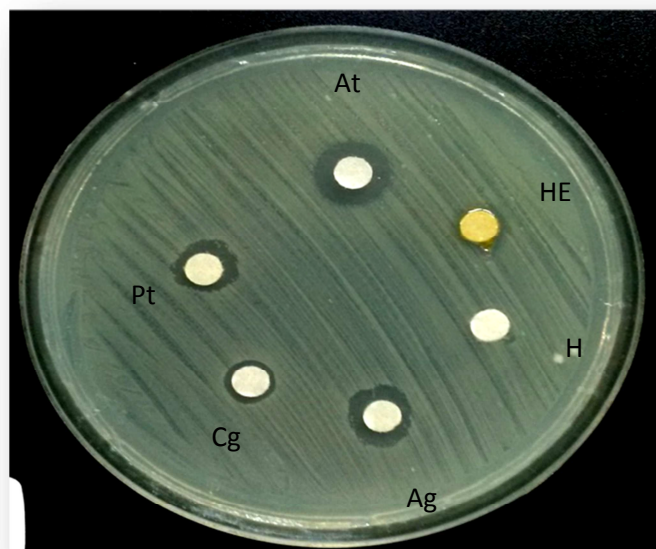
A partir des résultats des figures 41 et 42 obtenus au bout de 24h d'incubation nous avons réalisé une lecture de la galerie selon qu'il s'agit d'une réaction positive (+) ou négative (-), indiquée par un changement de la coloration initiale, par la suite nous avons repris ces résultats sur le logiciel API web qui nous a rapporté les données des tableaux X et XI. L'analyse des résultats des tableaux 1 et 2 indique respectivement un degré de pureté d'*E. coli* qui est de l'ordre de 97,7%, et un degré de pureté de *P. aeruginosa* de l'ordre de 98%.

3.2. Méthode de diffusion sur milieu solide

Les résultats de l'estimation de l'activité antibactérienne des extraits du gingembre sont illustrés dans les figures 43,44 et le tableau XII ci-dessous :



A



B

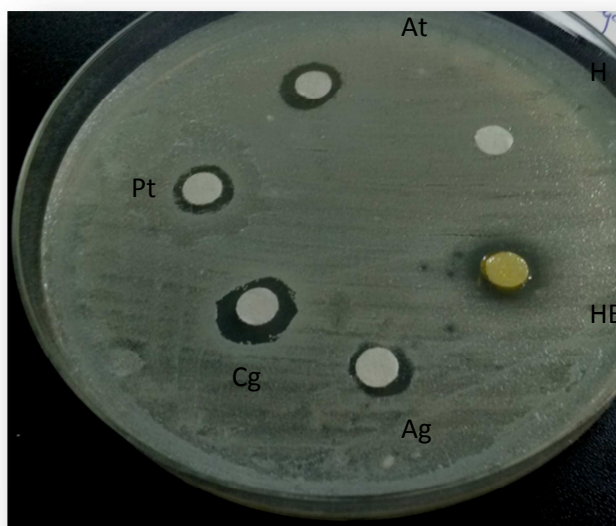


Figure 43 : résultats de l'aromatogramme

A : *Pseudomonas aeruginosa* ; B : *Echerichia. coli*; C : *Staphylococcus aureus*

Tableau XII : Diamètres des zones d'inhibition (mm)

Bactéries Extraits (10µl)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeurigina</i>	<i>S. aureus</i>
Anthocyanes	12.33 ± 0.57	13.83 ± 0.29	9.16 ± 1.04
Aglycones	10.83 ± 0.29	7.83 ± 0.29	6.5 ± 1
C-glycosides	6 ± 0	11.5 ± 0.5	9.83 ± 0.29
Polyphénols totaux	9.83 ± 0.29	6 ± 0	6.83 ± 0.29
Hydrolat	0.6 ± 0	0.6 ± 0	0.6 ± 0
Huile essentielles	6 ± 0	0.6 ± 0	11.83 ± 0.29
Témoin positif (ATB)	(COL) : 11 ± 0	(COL) : 13 ± 0	(VAN) : 14 ± 0
Témoin négatif (Diéthyl éther)	0.6 ± 0	0.6 ± 0	0.6 ± 0

ATB : antibiotique ; COL : Colistine ; VAN : Vancomycine

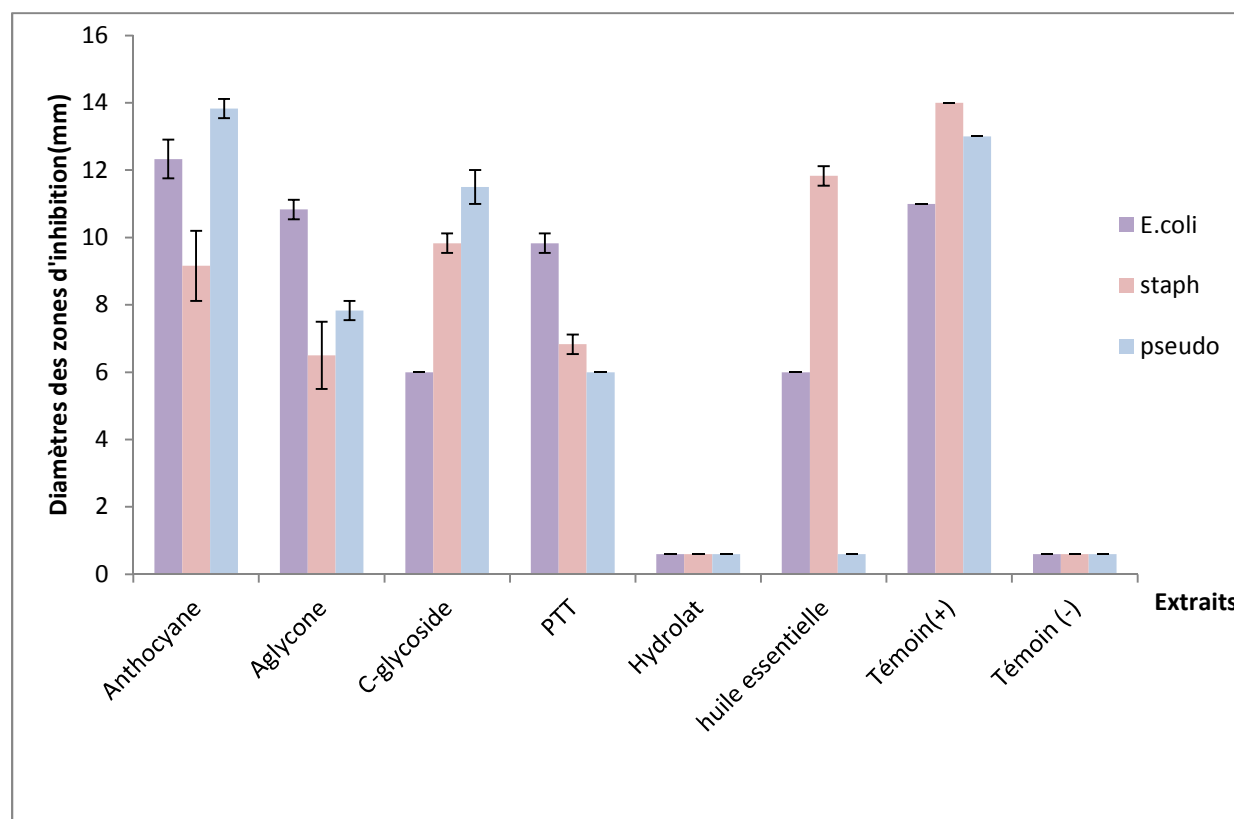


Figure 44 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits testés

Le test d'évaluation de l'activité antibactérienne sur milieu solide, consiste à déterminer la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne en présence des différentes fractions testées : Anthocyanes, Aglycones, C-glycosides, polyphénols totaux, huile essentielle en plus de l'hydrolat. Cette activité a été estimée par la mesure du diamètre des halos d'inhibition des trois souches bactériennes : *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Il ressort des tests antimicrobiens que les différentes fractions testées présentent des niveaux d'activités variables en fonction des bactéries étudiées.

Les zones d'inhibition, variant entre 6 et 14 mm, indiquent que les souches sont sensibles aux extraits et les zones d'inhibitions, inférieur à 6 mm, indiquent que les souches sont non sensibles vis-à-vis des extraits.

A partir de l'examen du tableau XII et des figure 43 et 44 on a noté que :

- Les anthocyanes ont présentait un effet antibactérien contre *E. coli* et *P. aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition respectifs de 12.33 ± 0.57 mm et 13.83 ± 0.29 mm supérieur aux diamètres obtenue pour la colistine contre ces dernière 11 ± 0 mm et 13 ± 0 mm, respectivement. Par contre une activité inhibitrice modérée vis à vis de *S. aureus* avec un halo d'inhibition de 9.16 ± 1.04 mm inférieur à celui de la vancomycine 14 ± 0 mm.
- L'huile essentielle n'a pas eu d'effet significatif vis-à-vis d'*E. coli* et pratiquement pas d'effet sur *P. aeruginosa* avec des diamètres respectifs de 6 ± 0 mm et 0.6 ± 0 contre 11 ± 0 mm et 13 ± 0 mm respectivement pour le témoin positif. Ce qui nous laisserait juger qu'*E. coli* et *P. aeruginosa* sont non-sensibles à la présence de l'huile essentielle du gingembre. Par contre on a constaté une sensibilité remarquable de *S. aureus* qui se traduit par un halo d'inhibition de 11.83 ± 0.29 mm assez proche du diamètre de la vancomycine 14 ± 0 mm
- L'hydrolat n'a présenté aucune activité inhibitrice contre les trois souches testées, ce qui nous laisserait déduire que ces dernières sont non-sensibles à la présence de l'hydrolat.
- Les PTT et les aglycones ont présentaient un effet antibactérien modéré contre *E. coli*, avec des diamètres respectifs de 9.83 ± 0.29 mm et 10.83 ± 0.29 proche de celui du témoin positif 11 ± 0 mm. Par contre on a noté une faible activité vis à vis de *P. aeruginosa* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 6 ± 0 et 6.83 ± 0.29 mm, respectivement pour l'extrait PTT, 7.83 ± 0.29 mm et 6.5 ± 1 inférieur à celles des témoins positifs 13 ± 0 mm et 14 ± 0 mm, respectivement.
- Les c-glycosides n'ont pas eu d'effet significatif contre *E. coli* 6 ± 0 mm par contre on a constaté une sensibilité de *P. aeruginosa* et *S. aureus* vis-à-vis de notre extrait avec des diamètres respectifs de 11.5 ± 0.5 mm ,proche de celui de la colistine, et 9.83 ± 0.29 mm , inférieur à celui de la vancomycine.

Nous avons comparé nos résultats à quelques travaux antérieurs:

D'après nos résultats on a noté une intéressante activité antibactérienne des trois classes de flavonoïdes contre les trois germes testés : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Qui, nous rappelons avec les diamètres respectifs de 12.33 ± 0.57 mm ; 13.83 ± 0.29 mm ; 9.16 ± 1.04 mm, pour les anthocyanes. Une intéressante activité des aglycone contre *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 10.83 ± 0.29 mm, et enfin, des diamètres de l'ordre de 11.5 ± 0.5 mm et $9.83 \pm$

0.89 mm respectivement contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*, pour les C-glycoside. Sur ce, on pourrait déduire que l'effet antibactérien des flavonoïdes totaux contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 257853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 rapporté par Gaurav K. *et al.* (2011) serait due à la présence de ces trois classes de molécules flavoniques : Anthocyanne – Aglycone – C-glycoside. Cependant, nos résultats reste à être confirmer part d'autres travaux à venir.

Ce qui est des polyphénols totaux (PTT), nos résultats ont montrés un effet antibactérien contre les trois souches bactériennes *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* avec des diamètres respectifs : 9.83 ± 0.29 mm ; 6 ± 0 mm, 6.83 ± 0.29 mm ceci dit, nos résultats sont en désaccord avec les résultats trouvé par Oueslati S. (2018) qui n'a signalé aucun pouvoir inhibiteur des PTT contre *E. coli* et *S. aureus* par contre il a signalé une activité contre *P. aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 10 ± 0.58 mm assez élevé par rapport au diamètre indiqué dans nos résultats (6 ± 0 mm).

Medjahed Z. (2016) a rapporté que les polyphénols sont doués d'activité antibacteriennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être liés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité.

Quant à l'huile essentielle, aucun effet antibactérien significatif n'a été révélé contre *E. coli* et *P. aeruginosa* : 6 ± 0 ; 0.6 ± 0 respectivement, nous rappelons qu'elles sont toutes deux des bactéries à Gram (-), ce qui est en désaccord avec les résultats trouvés par Oueslati S. (2018) qui a noté une inhibition totale de ces dernières par l'huile essentielle de *Zingiber officinale*. Par contre on rejoint les résultats de Kamazeri *et al.* (2012) sur l'huile essentielle de l'espèce *Zingiber cassumunar* qui s'est montrée inactive contre *P. aeruginosa* et avec une faible activité sur *E. coli* dont le diamètre de la zone d'inhibition est de l'ordre de 7,5 mm. A l'opposé on a noté une activité remarquable avec un diamètre d'inhibition de 11.83 ± 0.29 contre *S. aureus* qui est une bactérie à Gram (+), ainsi on rejoint Oueslati S. (2018) dont, les résultats ont indiqués une activité très élevée de l'HS contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 18,3 mm. Cependant, elle reste plus forte que celles enregistré par nos travaux. Cette différence, pourrait être dû à la qualité de l'huile essentielle et sa richesse en composé actifs qui varient selon plusieurs facteurs dont principalement : l'origine géographique, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction.

Le pouvoir inhibiteur des HS revient selon Teuscher E. *et al.* 2005 à leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en huile essentielles conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques.

3.3. Méthode de dilution sur milieu solide

3.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits du gingembre vis-à-vis des trois souches testées : *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sont consignés dans le tableau XII ci-dessous :

Tableau XII: Résultats des CMI pour chaque extrait

Extraits	Bactéries	Concentration de l'extrait (ml)				
		$\frac{2}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{0.5}{20}$	$\frac{0.25}{20}$	$\frac{0.125}{20}$
Anthocyanes	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+
C-glycoside	<i>E. coli</i>	-	-	-	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+
	<i>S. aureus</i>	-	+	+	+	+
PTT	<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	-	+	+	+	+
	<i>S. aureus</i>	-	+	+	+	+
Huile essentielle	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	+	ND
	<i>P. aeruginosa</i>	ND	ND	ND	+	ND
	<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND	-	ND
Aglycone	<i>E. coli</i>	ND	ND	+	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	ND	ND	+	+	+
	<i>S. aureus</i>	ND	ND	+	+	+
Hydrolat	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+

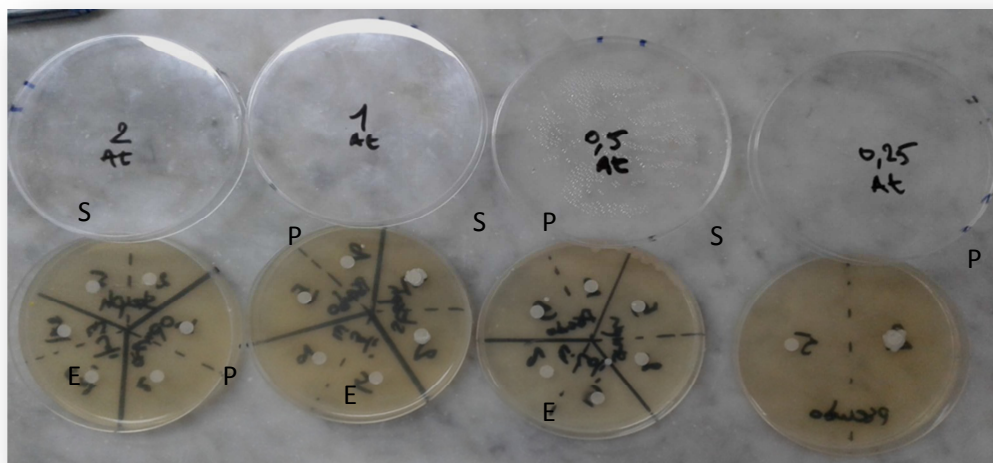
ND : Non déterminé ; + : présence de croissance bactérienne; - : absence de croissance bactérienne; □ CMI

D'après les tableaux on note :

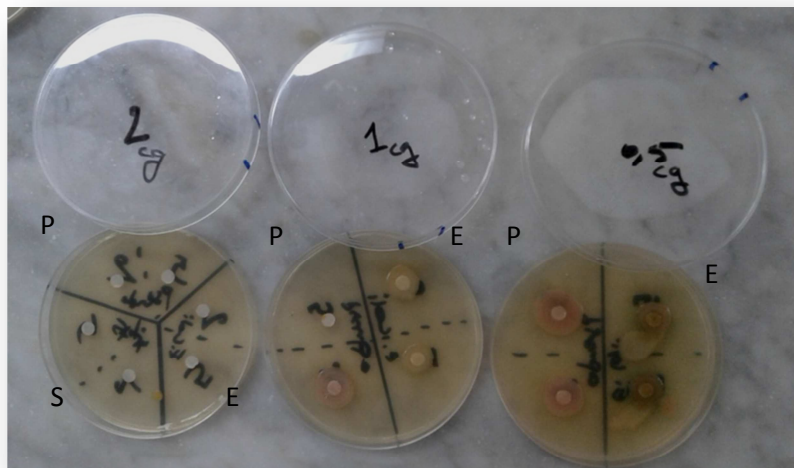
- La concentration minimale inhibitrice (CMI) des anthocyanes est de 0.25 ml, inclus dans 20 ml du milieu MH, vis-à-vis d'*E. coli* et de 0.5/20 ml contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*.
- La CMI des c-glycosides est de 0.5/20 ml contre *E. coli* et *P. aeruginosa* et de 2/20 ml contre *S. aureus*.
- La CMI des PTT est de 2/20 ml contre les trois souches bactériennes testées.
- On n'a pas noté de CMI pour l'huile essentielle vis-à-vis d'*E. coli* et *P. aeruginosa* par contre une CMI de 0.25/20 ml contre *S. aureus*.
- On n'a pas noté de CMI pour les aglycones et l'hydrolat vis-à-vis des trois souches testées.

3.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

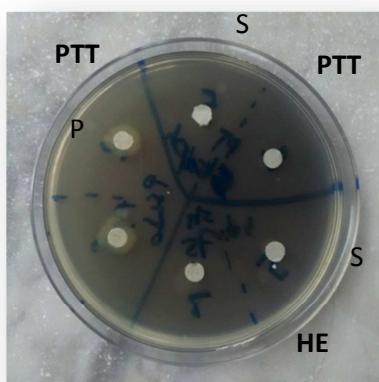
Les résultats des concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits du gingembre vis-à-vis des trois souches testées : *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, apparaissent dans la figure 45, ci-dessous :



A : Résultats des CMB pour les Anthocyanes



B : Résultats des CMB pour les C-glycosides



C : Résultats des CMB des polyphénols totaux (PTT) et de l'huile essentielle (HS)

Figure 45 : Résultats des CMB

P : *P aeruginosa*; E : *Echerichi coli* ; S : *Staphylococcus aureus*

A fin de déterminer si l'effet antibactérien des différentes fractions testées est bactéricide ou bactériostatique vis-à-vis des trois souches, on calcule le rapport CMI et CMB, ainsi indiqué dans le tableau xx ci-dessous :

Tableau XIII : résultats des CMB pour chaque extrait

Extraits (ml)	Bactéries	CMI	CMB	CMI / CMB
Anthocyanes	<i>E. coli</i>	0.25/20	0.5/20	≤ 4
	<i>P. aeruginosa</i>	0.5/20	0.5/20	1
	<i>S. aureus</i>	0.5/20	0.5/20	1
C-glycoside	<i>E. coli</i>	0.5/20	2/20	≤ 4
	<i>P. aeruginosa</i>	0.5/20	2/20	≤ 4
	<i>S. aureus</i>	2/20	2/20	1
PTT	<i>E. coli</i>	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	2/20	-	-
	<i>S. aureus</i>	2/20	2/20	1
Huile essentielle	<i>E. coli</i>	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	0.25/20	0.25/20	1

D'après la figure 45 et le tableau XIII on constate que les anthocyanes et les c-glycosides ont montrés un effet bactéricide vis-à-vis des trois germes testées à des concentrations respectives de 0.5/20 ml et 2/20 ml, les PTT et l'huile essentielle ont montrés une activité bactéricide contre *S. aureus* qui est une bactérie Gram (+) à des concentrations respectives de 2/20 ml et 0.25/20 ml, par contre un effet bactériostatique contre *E. coli* et *P. aeruginosa* qui sont des bactéries Gram (-). Ainsi nous pouvons suggérer que les bactéries Gram (+) sont plus sensible à la présence des PTT et de l'HS du gingembre que les bactéries Gram (-) ce ci pourrait être en relation avec la différence de structure cellulaire des bactéries Gram (+) et des bactéries Gram (-).

Ces résultats suggèrent que *Zingiber officinale* L. pourrait servir comme source alternative d'agents antibactériens naturels, pour la protection de l'être humain contre les maladies infectieuses.

A decorative orange border that resembles a scroll, with rounded corners and a vertical strip on the left side. The word "Conclusion" is centered within this border.

Conclusion

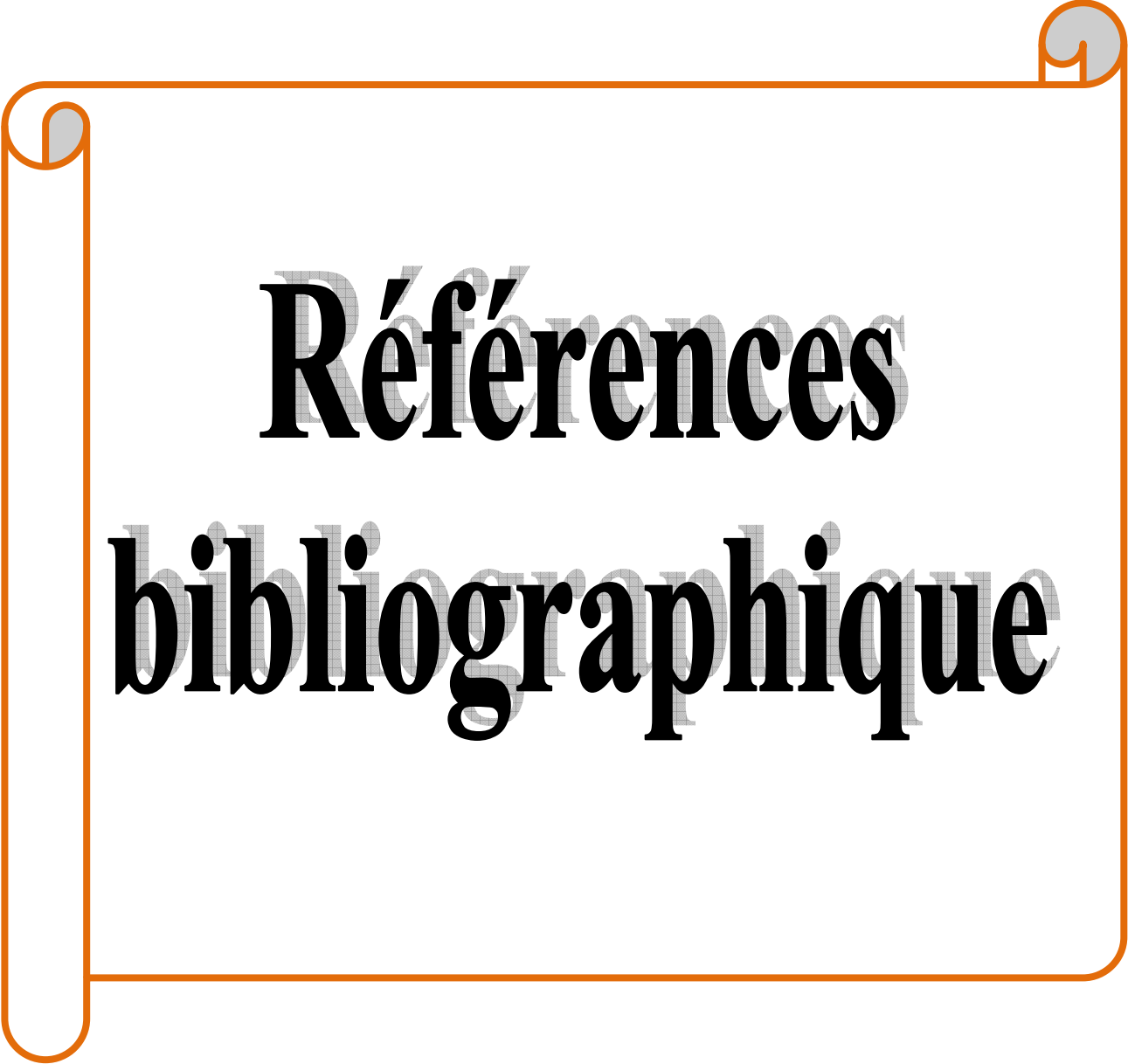
Conclusion et perspectives

La présente étude nous a permis d'évaluer les propriétés antibactériennes des extraits du rhizome de l'espèce *Zingiber officinale* L. A l'issue de ce présent travail, on conclut que :

- Le dosage quantitatif des polyphénols totaux par le réactif de Folin-ciocalteu a révélé que le gingembre contient 25.28 mg EAG/gMS.
- Le dosage quantitatif des trois extraits flavoniques par la méthode d'AlCl₃ a révélé des teneurs de l'ordre de 1.092 mg/g pour les anthocyanes; 0.216 mg/g pour les C-glycosides; et 0.0119 mg/g pour les aglycones.
- Le rendement en HS est estimé à 1.09% contenue dans 1 kg de drogue anhydre.
- L'estimation du pouvoir antibactérien des extraits a révélé un potentiel inhibiteur de tous les extraits mis à part l'hydrolat qui s'est révélé inactif, les anthocyanes et les c-glycosides ont montrés un effet bactéricide vis-à-vis des trois germes testées, les PTT et l'huile essentielle ont montrés une activité bactéricide contre *S. aureus* par contre un effet bactériostatique contre *E. coli* et *P.*

Ces résultats suggèrent que *Zingiber officinale* L. pourrait servir comme source alternative d'agents antibactériens naturels, pour la protection de l'être humain contre les maladies infectieuses et ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de recherche de ses multiples effets favorables à la santé. Par conséquent, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologique sur cette espèce afin de mieux cerner les molécules responsables des activités observées. En effet, on recommande que les futures recherches sur *Zingiber officinale* L. se concentre sur :

- La recherche des meilleurs procédés de culture et des moyens d'accroître la production ainsi que la biodisponibilité de ces constituants bioactifs.
- Développer des médicaments antibactériens à base de plantes.
- La recherche de nouveaux protocoles d'extraction de ces principes actifs sans avoir recours à l'utilisation de solvant organique qui sont nocif pour la santé humaine.
- Initier de nouvelles études afin d'évaluer le potentiel antibactérien de ces bioactifs in vivo.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Avry MP, Gallouin F.** Epices, aromates et condiments. Paris : BELIN édition. 2007. 416p.
- **Allais D.** Fiche phytothérapie. Actualités pharmaceutiques. 2009. 483: 53-54.
- **Aouni M, Pelen F, Soulimani R.** Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*. 2013. 11:225-236
- **Aouzelag A. et Ghouil N.** Cinétique de séchage du gingembre, dosage des composés phénoliques et préparation d'un lait aromatisé au gingembre. 2015. Mémoire de Fin de Cycle du diplôme MASTER. 56p.
- **Akinola A. A., Ahmad S. et Maziah M.** Total anti-oxidant capacity, flavonoid, phenolic acid and polyphenol content in ten selected species of zingiberaceae rhizomes. 2014. *Journal Traditionel of Complement Alternative Medecine*. 11:7-13.
- **Alilou H, Bencharki B, Hassani LMI. et Barka N.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *Odorus*. *Afrique SCIENCE*. 2014. 10(3) : 316 - 328
- **Asther L. ; 2012.** Eléments complémentaires à la conférence « sur la route des épices ». Jardin botanique de l'université de Strasbourg.
- **Anton R. Lobstein A. ; 2005.** Plantes aromatique, épices, aromates condiments et huiles essentielles. Tec Doc. Paris. P522.
- **Anonyme ; 2015.** Fiches Technique de bactériologie. Microbiologie et biotechnologie, département de Biologie, collège Lionel-Groulou

B

- **Bate Smith, E. C. ; 1954 :** Leuco-anthocyanins I : Detection and identification of anthocyanidin formed from leuco-anthocyanidins in plant tissues. *Biochem. J.* 58, 122-125 .
- **Bruneton J.** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2009. 4^e éd. Cachan : Tec & Doc Lavoisier. 331p.
- **Botineau M. et Pelt JM.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. 2010. Paris : Tec & Doc Lavoisier. 1336 p

- **Békro YA., Békro M., Boua B., Fézan H. TRA BI. & Ehouan E. ÉHILÉ.** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae).2007. Sciences & Nature **4** (2) : 217 – 225.
- **Boizot N. et Charpentier J.P.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. 2006. Le cahier des techniques de l'Inra : 79-82.
- **Bouquet et Fouret.** 1975. Recherche chimique préliminaire sur les plantes médicinales du Congo Brazaville. Fitothérapie. XLVI : 175-191.
- **Boubekri C.,** 2014, Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. thesis, Université Mohamed Khider Biskra.176p.
- **Bouchouka E.** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes Sahariennes. 2016. doctorat en sciences UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA. 114p.
- **Burnichon N; Texier A.** 2003. L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques. L'antibiogramme. DES bactériologie. 29p.
- **Basli A., Chibane M., Madani K., Oukil N.** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum Desf.* Phytothérapie ,**10** (1) : 2–9. 2012.

C

- **Collin S. et Crouzet J.** Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Paris : Tec & Doc Lavoisier. 2011.336p.
- **Catier O. et Roux D.** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. Collection : Cahiers du préparateur en pharmacie 2007 (3ème édition) Editeur : WOLTERS KLUWER. 141p.
- **Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong L.F., Lianto F.S., Wong S.K., Lim K.K., Joe C.E. et Lim T.Y.,** 2008, Antioxidant and Tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species; Food Chemistry 109(3):477-483.
- **Cecchini et Ticli B.,** 2008, les plantes médicinales. France : De Vecch

D

- **Debuigne G. et Couplan F.** 2009. La boîte à secrets des plantes médicinales 70 plantes médicinales pour se soigner sans danger. Editeur(s) : Larousse Collection : Coffrets ; 96p.

- **Danciu C., Vlaia L., Fetea F., Hancianuc M., Coricovac D.E., Ciurlea S.A., Șoica C.M.,** Evaluation of phenolic profile, antioxidant and anticancer potential of two main representants of Zingiberaceae family against B164A5 murine melanoma cells.2015. 12;48:1.
- **Datta C., Dutta A., Dutta D. et Chaudhuri S., 2011,** Adsorption of polyphenols from ginger rhizomes on an anion exchange resin Amberlite IR-400 – Study on effect of pH and temperature, *procedia food Science*, **1**: 893 – 899.
- **Ding S.H., An K.J., Zhao C.P., Li Y., Guo Y. H. et Wang Z.F., 2012,** Effects of drying methods on volatiles of Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Food et bioproducts processing*, **90**:515-524.

£

- **Ebrahimi SN, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi MM.** Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chemistry*: 110 (4), 927–931. 2008.

ƒ

- **Frenay J. Renaud F. Leclercq R. RIEGEL F. (2007).** Précis de bactériologie clinique. Paris : Editeur : ESKA / LACASSAGNEParis. 1744P.
- **Fauchere JL. (1997).** BACTERIOFICHES, Technique en bactériologie clinique. Paris : ellipses Editions. 175p
- **Faivre Cl. Lejeune R., Staub H. et Goetz P. (2006).** Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) *Phytotherapie* **4**(2):99-102.
- **Foine A.** Les Les Zingiberaceae en phytothérapie : l'exemple du gingembre THÈSE , DIPLÔME D'ÉTAT. 2017 Université de Lille 2. 182p.

G

- **Gigon F. (2012).** Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*. **10** : 87-91.
- **Gazengel JM., Orecchioni AM., Ghestem A., Seguin E., Paris M ;** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. . Le préparateur en pharmacie, dossier 2, Paris : Tec & Doc Lavoisier. 2001. 275p

- **Ghasemzadeh A., Jaafar H. Z. E. et Rahmat A.**, 2010, Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*. **15**(6):4324-33.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M. & Orecchioni A.M.**, 2001. Le préparateur en pharmacie. Dossier 2 : Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- **Ghedadba N, Bousselsela H, Hambaba L, et al.** 2015. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie* 12: 15–24

H

- **Huguette M.** Les Carnet du Goût, La route des épices naturelles, Mélanges D'épices, aromates et condiments naturels. Bayeux : Sang de la Terre.2008. 416p.
- **Huete A.** HUILES ESSENTIELLES POUR TOUS LES JOURS. Le bon guide. Artemis Eds. 2012. Collection. Bon Reflexe.
- **Hart T. et Shears P.** Atlas de poche MICROBIOLOGIE. Coll. Atlas de poche. Editeur : LAVOISIER MSP. 2006. 314p

J

- **Jelled A., Fernandes A., Barros L., Chahdoura H., Achour L., Ferreira I.C.F.R. et Ben Cheikha H.**, 2015, Chemical and antioxidant parameters of dried forms of ginger rhizomes, *Industrial crops and products*, **77**:30–35.

K

- **Kamazeri S, Amirah T, Othman, AS, Muhammad T, Susanti D, Qaralleh H** (2012) Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asi Pac J of Tropical Med* 5: 202-209.
- **Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C. & Abdelly C.**, 2009. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 244-249.

- **Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A. & Abdelly C.**, 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol.* 331: 865–873.
- **Kholkhal F.** ; 2014. Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen.



- **Lebreton Ph., Jay M., Voirin B. et Bouchez M.P.**, 1967-*Chim. Anal. Fr.*, 49 (7):375-383.
- **Lucienne AD.** Les plantes médicinales D'Algérie. 2^e éditions. Alger : BERTI Editions. 2010. 195p.
- **Le Stang F.** La découverte du monde des plantes, comprendre le monde végétal. Paris: Sang de la Terre. 2013. 156 p.
- **Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y (2007)** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry* **102**: 771-776
- **Li Y., Tran V.H., Duke C.C. et Roufogalis B.D. (2012).** Gingerols of *Zingiber officinale* Enhance Glucose Uptake by Increasing Cell Surface GLUT4 in Cultured L6 Myotubes. *Planta Medica.* 78 (14) : 1549-1555.



- **Macheix J.J. ; Fleuriet A.; Jay-allemand C.** Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. In : Les composés phénoliques des végétaux. Lausanne : Presse polytechniques et universitaires romandes. 2006.192p
- **Morot-gaudry JF., Maurel C., Moreau F., Prat R. et Sentenac H.** Biologie végétale, Nutrition et métabolisme. *Collection : Sciences Sup, Dunod* .2017.238p.
- **Medjahed Z.** Caractérisation des activités biologiques des extraits de Frêne, activités biologiques des extraits de *Fraxinus angustifolia*. 2016. Presses Académiques Francophones. 216 p. .
- **Muanda FN.** IDENTIFICATION DE POLYPHENOLS, EVALUATION DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ETUDE DE LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES. THESE, Grade de Docteur, L'Université Paul Verlaine-Metz, 2010.160p.

- **Mukherjee S., Mandal N., Dey A. et Mondal B., 2014**, An approach towards optimization of the extraction of polyphenolic antioxidants from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), Journal of Food Science and Technology **51**: 3301–3308
- **Marincu L., Vlaia V., Dehelean C.A., et Trandafirescu C.2015**. Evaluation of phenolic profile, antioxidant and anticancer potential of two main representants of Zingiberaceae family against B164A5 murine melanoma cells, Biological research, **48**: 1-9.
- **Maisuthisakul P. ; Suttajit M ; Rungnaphar P. ; 2007**. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food chemistry, 100 : 1409-1418.

D

- **Ouzid Y. ; Smail-Saadoun N. ; et Houali K. ; (2018)**. Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate aiat (Laghouat, Algeria); ; Journal of Fundamental and Applied Sciences, 10 (1) :147-157
- **Oueslati S., gharsalli W., Abdelkarim M., Ben aissa-fennira F., Ksouri R.; (2018)**. Biochemical evaluation and exploration of the antioxidant, antibacterial and anticancer potential of *Zingiber officinale*. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, **54** (1): 3561-3568

P

- **Padrini F. et Lucheroni MT**. Le grand livre des Huiles Essentielles, guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté grâce aux essences. Éditeur Paris : De Vecchi, 2003.Collection, Médecine douce, bien-être, 206 p.
- **Podsędek A. (2007)**. Natural antioxydants and antioxydant capacity og Brassica vegetables: A review. LWT-Food Science and Technology. **40** (1) : 1-11.
- **Priyanka Agrahari, Prabhudutta Panda, Navneet Kumar Verma, Wajahat Ullah Khan, Sandeep Darbari** : A brief study on zingiber officinale-A review.2015 .Journal of Drug Discovery and Therapeutics. **28** (3): 20-27.
 - **Pousset J-L.; 2004**. Plantes médicinales d'Afrique - Comment les reconnaître et comment les utiliser?. Edisud. 288p.

R

- **Rombi M, Robert D.** Le Dictionnaire des plantes médicinales, 130 plantes médicinales, monographie, composition, mode d'action. Monaco : Alpen éditions; 2015. 730p.
- **Roger P.** Expérimentation en biologie et physiologie végétales, Trois cents manipulations. 2007. Editeur Hermann, Collection Hr.hors collec. 298p.

S

- **Sarni-Manchado P. et Cheynier V.** Collectif. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : Tec & Doc Lavoisier ; 2006. 398 p.
- **Shirner M.** Huiles essentielles, Description et utilisation de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Editeur Guy Tredaniel. 2009. 323 p
- **Sonale R.S. et Kadimi U.S., 2014,** Characterization of gingerol analogues in supercritical carbon dioxide (SC CO₂) extract of ginger (*Zingiber officinale* R.), Journal of food science and technology, **51**: 3383–3389.
- **Sangwan A., Kawatra A. et Sehgal S., 2014,** Nutritional composition of ginger powder prepared using various drying methods, Journal of Food Science and Technology, **51**: 2260–2262

T

- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A., Rohner C., Bernard M., Bauerman U., Werner M. 2005.** Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles Editeur : Tec & Doc. Paris -- Lavoisier -- Éd. médicales internationales. Cachan; **1** : 522 p.
- **Trabelsi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., Oueslati S., Bourgou S., Hajlaoui H. et Abdelly C. (2010).** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. Food Science and Technology. **43**(4): 632-639.

V

- **Vermerris W. et Nicholson R.** Phenolic Compound Biochemistry. Dordrecht: Springer Netherlands, **2006.** 276 p.

W

- **Wichtl M., Anton R., Czygan FC., Frohne D., Hiller K., Hölzel C., Nagell A., Pachaly P., Pfänder HJ. Willuhn G., Buff W.** Plantes thérapeutiques, Tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutique. 2^e édition. 2003. 692 p.
- **Willem JP.** Antibiotiques naturels. Vaincre les infections par les médecines naturelles. Ed SULLY. France. 2012. 317 p.



Annexes







Annexe I : Produits chimiques / réactifs utilisés

Catégories	Nom du réactif	Formule chimique
Acides	Acide chloridrique	HCL
	Acide acétique	CH ₃ COOH
	Acide trichloroacétique	/
	Acide sulfurique	H ₂ SO ₄
Bases	Hydroxyde de sodium	NaOH
	carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃
	Hydroxyde d'amonium	NH ₄ OH
Solvant	Méthanol	CH ₃ OH
	Ethanol	C ₂ H ₆ O
	2-butanole	C ₄ H ₁₀ O
	Diéthyl éther	/
	Acétate d'éthyle	/
	Acétone	C ₄ H ₈ O ₂
Témoins	Aide gallique	C ₇ H ₈ O ₅ H ₂ O
Colorants	Rouge congo	/
	Vert de méthyle	/
	Fuchine	/
	Lugol	/
Divers	Magnésium	Mg
	Chlorure d'aluminium hydraté	AlCl ₃ 6H ₂ O
	Trichlorure de fer	FeCl ₃
	Hypochlorite de sodium	/










Annexe II : Appareils et instruments utilisés

Broyeur électrique, balance de précision, étuve, autoclave, hydrodistillateur, agitateur électrique, microscope optique, centrifugeuse, spectrophotomètre UV-Visible, cuves, bain marie, micropipette, pipette pasteur, écouvillon, boîtes de pétrie, bec-benzin, pipette pasteur verreries (fioles jaugées, ampoule à décanter, entonnoirs, béchers, érlenmeyers, tubes à essai, verre de montre,.....)

Annexe III : tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20^E :

Microtubule	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe IV : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20^E :

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe V : Tableau des résultats de l'antibiogramme de l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Antibiotique	Sensibilité	Diamètre d'inhibition
Amikacine	S	22 mm
Chloramphenicol	S	25 mm
Erythromycine	I	22 mm
Gentamicine	S	20 mm
Ofloxacine	S	27 mm
Pristinamycine	S	24 mm
Tétracycline	S	25 mm
Vancomicine	?	14 mm
Ciprofloxacine	S	22 mm
Oxacilline	S	(FOX Disque)
Amoxicilline	S	26 mm
Clindamycine	I	20 mm
Acide fusidique	S	28 mm
Kanamycine	S	23 mm
Peniciline G	S	30 mm
Rifampine	S	29 mm
Trimethoprime/Sulfamethoxazole	S	24 mm
Céfoxitine	S	30 mm
Teicoplanine	S	16 mm

I : Intermédiaire

S : Sensible

Annexe VI : Tableau des résultats de l'antibiogramme de l'espèce *Escherichia coli*.

Antibiotique	Sensibilité	Diamètre d'inhibition
Amikacine	S	22 mm
Amoxiciline/ Acide clavulanique	S	18 mm
Céfotaxime	S	30 mm
Chloramphenicol	S	28 mm
Gentamicine	S	20 mm
Acide nalidixique	S	22 mm
Trimethoprime/ sulfamethoxazole	S	24 mm
Ciprofloxacine	S	32 mm
Ertapenem	S	28 mm
Amoxiciline	S	18 mm
Céfazoline	S	18 mm
Céftazidime	S	28 mm
Colistine	R	11 mm
Imipenem	S	28 mm
Nitro furantoine	S	18 mm
Céfoxitine	S	22 mm
céfalothine	R	11 mm

R : Résistant

I : Intermédiaire

S : Sensible

Annexe VII : Tableau des résultats de l'antibiogramme de l'espèce. *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotique	Sensibilité	Diamètre d'inhibition
Amikacine	S	18 mm
Colistine	S	13 mm
Imipenem	S	24 mm
Ticarcilline	I	21 mm
Ciprofloxacine	S	28 mm
Ticarcilline/ acide clavulanique	I	17 mm
Ceftazidime	S	24 mm
Gentamicine	S	17 mm
Pepiraciline	S	21 mm
Tobramycine	S	18 mm
Netilmicine	S	20 mm

I : Intermédiaire

S : Sensible

Annexe VIII : Teneur du gingembre en flavonoides

Longueur d'onde	[520]	[340]	[420]	[435]
Extraction	Anthocyane	C-glycoside	Aglycones	
			A-flavonoide	Flavonols
Teneur (mg/g)	1,092	0,108	0,0119	

Annexe IX : Gamme de concentration de l'acide gallique

[AG] g/l	0,03	0,06	0,09	0,12	0,15	0,18	0,21	0,24	0,27	0,3
MOYENNE DO	0,43633333	0,791	1,149	1,32833333	1,59533333	1,801	2,261	2,417	2,681	2,809
ECARTYPE	0,01050397	0,019	0,002	0,00750555	0,08850047	0,04	0,091	0,28004821	0,046	0,12855738

Résumé

Les microorganismes pathogènes pose actuellement un problème majeur de santé publique. De ce fait, la résistance des germes aux antibiotiques rend quelques fois le traitement thérapeutique inefficace et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Le recours aux plantes médicinales constitue alors une intéressantes pistes à explorer ; c'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à la valorisation d'une plante médicinale « *Zingiber officinale L* » par l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits du rhizome dont : les polyphénols totaux, les 3 classes de flavonoïde (les anthocyanes, les C-glycosides, les aglycones), l'huile essentielle, en plus l'hydrolat.

L'effet antibactérien à été déterminé par deux méthodes : la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de dilution sur milieu solide, pour les bactéries-tests *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Nos résultats ont prouvé l'existence d'un pouvoir antibactérien relatif à la présence des extraits du gingembre qui diffère en fonction du genre bactérien testé. Cependant aucune activité antibactérienne n'a été enregistrée pour l'hydrolat de l'huile essentielle du gingembre.

Mots clés: gingembre – activité antibactérienne – polyphénols – huile essentielles – Hydrolat.

Summary

Pathogenic microorganisms presently pose a major public health problem. As a result, the resistance of germs to antibiotics renders therapeutic treatment sometimes ineffective and requires the search for new antimicrobial agents. The use of medicinal plants is then an interesting avenue to explore; it is in this perspective that we are interested in the valuation of a medicinal plant "*Zingiber officinale L*" by the evaluation of the antibacterial activity of the extracts of the rhizome of which: the total polyphenols, the 3 classes of flavonoid (the anthocyanins, C-glycosides, aglycones), the essential oil, in addition the hydrolate.

The antibacterial effect was determined by two methods: the solid-state diffusion method and the solid-state dilution method, for the test bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Our results have proved the existence of an antibacterial power relating to the presence of ginger extracts which differs according to the bacterial genus tested. However no antibacterial activity was recorded for the hydrolate of the essential oil of ginger.

Keys words : Gingiber - antibacterial activity – polyphénols – essential oil - Hydrolat.